

Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung
bei Patienten mit einer Paraproteinämie,
einer Streptokinase-induzierten Fibrinolyse
und bei Neugeborenen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der
Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Wolfgang Maus
aus Bad Nauheim

Gießen 1974

**Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung
bei Patienten mit einer Paraproteinämie,
einer Streptokinase-induzierten Fibrinolyse
und bei Neugeborenen**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

des Bereiches Humanmedizin

der

Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Wofgang Maus

aus Bad Nauheim

Gießen 1974



Dekan: Professor Dr. med. D. Ringleb
Referent: Dozent Dr. med. W. H. Krause
Korreferent: Professor Dr. med. L. Róka

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
I <u>Einleitung</u>	1
II <u>Material und Methoden</u>	5
Citratplasma	5
Serum	5
Hämatokrit	5
Normotest	5
Thrombinzeit	6
Reptilasezeit	7
Arvinzeit	7
Thrombincoagulasezeit	8
Fibrinogen nach Astrup	9
α_2 -Makroglobulin	10
Antithrombin III	11
Fibrinogen(immunologisch)	13
Latex-Test	14
Staphylococcal-Clumping-Test	16
Protaminsulfat-Hämatokrit	17
Äthanol-Test	18
Euglobulinlyse-Zeit	18
III <u>Statistische Auswertung</u>	20
Mittelwert	20
Standardabweichung	20
F - Test	21
t - Test	21
Regression	22
Korrelationskoeffizient	23
IV <u>Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrinumwandlung bei Paraproteinämie</u>	25
Einleitung	25
Material und Methoden	25
Ergebnisse	26
Diskussion	35
Zusammenfassung	37

	<u>Seite</u>
V <u>Untersuchungen zum Einfluß der Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte auf die Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit</u>	39
Einleitung	39
Material und Methoden	40
Ergebnisse	40
Diskussion	47
Zusammenfassung	49
VI <u>Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung im Nabelschnurblut</u>	50
Einleitung	50
Material und Methoden	51
Ergebnisse	52
Diskussion	58
Zusammenfassung	60
VII <u>Allgemeine Zusammenfassung</u>	61
VIII <u>Literaturverzeichnis</u>	63

I Einleitung

Die Blutgerinnung ist ein proteolytischer Vorgang mit etlichen ineinander übergreifenden Reaktionen, deren Ziel es ist, das lösliche Fibrinogen, das in einer Konzentration von 0,2 - 0,4 g/100 ml im Humanplasma vorhanden ist, in unlösliches Fibrin umzuwandeln. Diese Umwandlung wird durch das Enzym Thrombin induziert, das im Blut in einer inaktiven Vorstufe als Prothrombin vorliegt. Zur Aktivierung dieses Prothrombins stehen 2 Wege zur Verfügung:

Im "Intrinsic System" wird der Gerinnungsvorgang durch den Kontakt des Blutes mit unphysiologischen, also fremden Oberflächen (z.B. Haut, Zellfragmente, Kollagen) ausgelöst. Dabei wird der Hageman-Faktor (F XII) aktiviert.

Beim "Extrinsic System" entsteht bei der Gewebsläsion eine Zellfragmentfraktion, die als "Gewebsthromboplastin" bezeichnet wird.

Der erste Abschnitt der Blutgerinnung, in der Thromboplastin gebildet wird, stellt die Vorphase dar.

In der 1. Phase wird Prothrombin durch das in der Vorphase gebildete Thromboplastin in Thrombin umgewandelt, wobei Ca^{++} (F IV) und F V nötig sind.

In der 2. Phase wird Fibrinogen in Fibrin umgewandelt. Dabei sind 2 Enzyme nötig: Thrombin und der fibrinstabilisierende Faktor (F XIII). Außerdem müssen noch Ca^{++} -Ionen anwesend sein.

Thrombin ist ein proteolytisches Enzym mit einem Molekulargewicht von 26.200, seine Substrate sind Fibrinogen und F XIII (FSF). Durch eine Proteolyse werden von den Fibrinogenmolekülen vom N-terminalen Ende der $\alpha(\text{A})$ -Kette ein Fibrinopeptid A, von der $\beta(\text{B})$ -Kette das Peptid B abgespalten. Die Molekulargewichte betragen für das Peptid A 2.000, für B 2.400 (11). Es entstehen außerdem noch das Peptid AP, das sich durch eine Phosphatgruppe vom Peptid A unterscheidet, und ein Peptid AY, dem im Vergleich zum Fibrinopeptid A

Alanin fehlt (11). Nach dieser durch Thrombin induzierten Proteolyse entstehen Fibringerinnsel, die in 5M Harnstoff löslich sind, da die noch reversible Polymerisation durch Wasserstoffbrückenbindungen bewirkt wird. Diese Fibrinmonomere können entweder End-zu-End oder Seit-zu-Seit aggregieren, was durch das jeweils fehlende Fibrinopeptid bestimmt wird.

An der Bildung von irreversiblen und harnstoffunlöslichen Fibringerinnseln ist noch ein weiteres Enzym beteiligt, es ist der Fibrinstabilisierende Faktor (F XIII). Die Fibrinpolymere werden durch eine Transglutaminasereaktion unter Abspaltung von Ammoniak peptidartig verknüpft. Dadurch ist dann das harnstofflösliche Fibrin zu harnstoffunlöslichem Fibrin vernetzt worden.

Die Einzelreaktionen der Fibrinogen-Fibrinumwandlung kann man so zusammenfassen (Abb. 1):

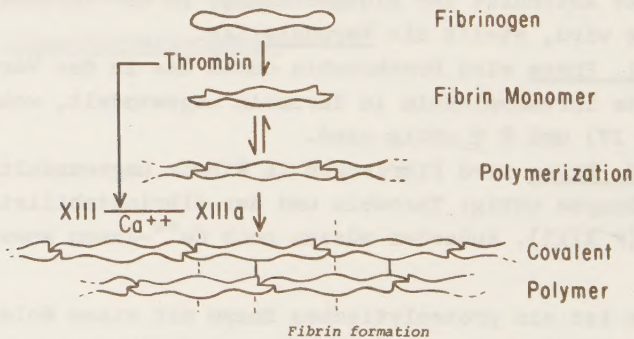


Abb. 1: Die Fibrinpolymerisation nach limitierter Proteolyse durch Thrombin (nach HARKER (32))

In der 3. Phase der Gerinnung kontrahiert sich das Gerinnsel, wobei Serum ausgepreßt wird (Gerinnselretraktion).

Da ein kontinuierlicher Umsatz und Abbau in der peripheren Strombahn abläuft, ("latente Gerinnung" von LASCH und ROKA (58)), benötigt der Organismus ein kompensatorisches Schutzsystem, um Fibrin überall dort wieder aufzulösen, wo es nicht benötigt wird. Das fibrinolytische System stellt ein Pendant zum Gerinnungssystem dar, man kann es wie die Blutgerinnung in 3 Abschnitte unterteilen: die Bildung von Aktivatoren, die Umwandlung von Plasminogen in Plasmin und die Fibrinspaltung. Der Aktivator kann aus zerstörten Gewebszellen freigesetzt werden, um eine Umwandlung des inaktiven Plasminogens in das Plasmin, das aktive Enzym des fibrinolytischen Systems, zu induzieren. Plasmin reagiert nicht streng substratspezifisch, sondern wirkt auf Fibrinogen und Fibrin. Dabei wird zuerst das Fragment X, das etwa 80% des ursprünglichen Fibrinogens ausmacht und das ein Molekulargewicht von 270.000 hat, und die kleineren Fragmente A, B und C abgespalten, danach dann die Fragmente Y und D. Unter anhaltender Plasmineinwirkung entsteht nach einigen Stunden ein weiteres Fragment D und schließlich auch noch E (Abb. 2).

Die gebildeten Spaltprodukte sind sowohl hinsichtlich der Hemmung der enzymatisch bedingten Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung wie auch der Hemmung der Fibrinmonomeraggregation wirksam (1, 56, 59, 60, 95).

Blutgerinnung und Fibrinolyse werden von Inhibitoren gesteuert, die die Aktivierung auf verschiedenen Stufen verhindern können. Am stärksten von den im menschlichen Blut vorkommenden Inhibitoren wirken Antithrombin III und alpha-2-Makroglobulin (35, 89), zusammen können sie eine vier- bis fünffache Menge an Thrombin hemmen (83). Außerdem neutralisieren sie das Thrombin nicht sofort vollständig,

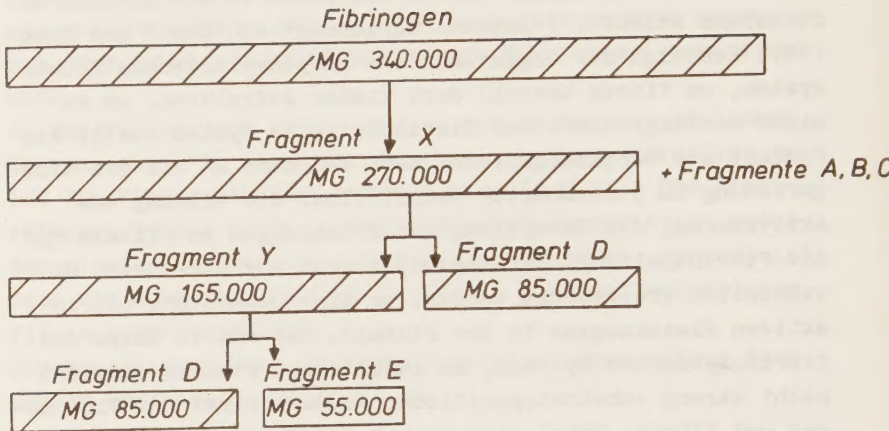


Abb. 2: Spaltung des Fibrinogens durch Plasmin
(nach MARDER (69)).

sondern progressiv bei einer anfangs konstanten, dann zunehmenden Geschwindigkeit.

Antithrombin III und alpha-2-Makroglobulin wirken auch noch als Antiplasminen. Wenn sie bei einer gesteigerten Thrombinfreisetzung verbraucht werden, können sie als Antiplasminen nicht mehr wirken. Sie erhalten so das Gleichgewicht zwischen Gerinnung und Fibrinolyse.

In der folgenden Arbeit soll untersucht werden, inwieweit Paraproteine, fetales Fibrinogen und Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte die Fibrinogen-Fibrinumwandlung beeinflussen und welche klinischen Bedeutungen sich möglicherweise daraus ergeben.

II Material und Methoden

Das zu untersuchende Venenblut der Patienten wird durch eine schonende Punktion der Ellenbeugenvenen, das der Neugeborenen aus der Nabelschnur gewonnen.

Die Untersuchungen werden im Citratblut, Citratplasma und Serum durchgeführt.

Citratplasma: 1:10, Natr.citr. 3,8% mit 250 E Trasylol/ml Endkonzentration, 20 min Zentrifugation bei 2000 g.

Serum: 1:10, 50 E Thrombin/ml mit 250 E Trasylol/ml Endkonzentration, 20 min Zentrifugation bei 2000 g.

Hämatokrit, Protaminsulfat-Hämatokrit, Normotest, Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit, Euglobulinlyse, Äthanoltest und Latex-Test werden sofort nach Erhalt der Blutproben bestimmt. Die Proben werden dann bis zur Durchführung der restlichen Untersuchungen bei -25°C eingefroren.

Es werden grundsätzlich mindestens Doppelbestimmungen vorgenommen.

Folgende Untersuchungen werden durchgeführt:

Hämatokrit (HK)

Der Hämatokrit wird hier im Citratblut durchgeführt.

Das Blut wird in ein nicht-heparinisiertes Mikro-Hämatokrit-Röhrchen aufgezogen und 5 min bei 3000 rpm zentrifugiert.

Normotest

Mit dem Normotest werden die Vitamin K-abhängigen Gerinnungsfaktoren II (Prothrombin), VII (Proconvertin) und X (Stuart-Prower-Faktor) erfaßt.

Die Charge (Nyegaard & Co, Oslo) wird mit 2,2 ml aqua dest. gelöst. 0,25 ml des Normotest-Reagens werden in einem Teströhrchen 3 min bei 37°C inkubiert. Nach Zugabe von 0,02 ml Citratblut mit einer 20 μ l-Eppendorf-Pipette wird die Zeit bis zum Eintritt der Gerinnung gemessen.

Die Eichkurve wurde mit dem Citratblut von 20 gesunden Erwachsenen im Alter von 18 - 40 Jahren erstellt.

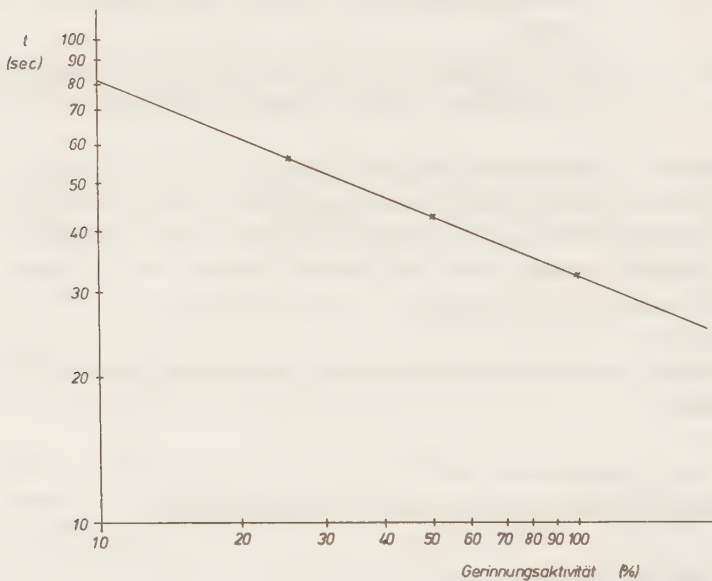


Abb. 3: Eichkurve Normotest

Thrombinzeit

Thrombin, ein Enzym vom Molekulargewicht von 26.200, spaltet vom Fibrinogen-Molekül die Fibrinopeptide A und B ab (s. Kapitel I). Thrombin wird durch die verschiedenen Anti-

thrombine neutralisiert. Diese Inaktivierung wird durch Heparin erheblich katalysiert.

1 Charge Test-Thrombin (Behringwerke, Marburg) mit 60 Einheiten wird mit 1 ml aqua dest. gelöst: Lösung I.

Diese Lösung wird unmittelbar vor Beginn der Bestimmung 1:7 mit aqua dest. verdünnt, so daß eine Endkonzentration von 8,5 E/ml besteht: Lösung II.

In einem Teströhrchen werden 0,1 ml Citratplasma mit 0,1 ml aqua dest. 30 sec bei 37°C inkubiert. Nach Zugabe von 0,1 ml der Lösung II wird die Gerinnungszeit gemessen.

Reptilasezeit

Die Reptilase ist ein thrombinähnliches Enzym mit einem Molekulargewicht von 40.000, das aus Bothrops atrox isoliert wird. Durch die Einwirkung der Reptilase auf das Fibrinogenmolekül wird das Fibrinopeptid A abgespalten (15, 18, 39).

Die Polymerisation der Fibrinmonomere geschieht End-zu-End (15). Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte verhindern diese Polymerisation. Antithrombine hemmen die Aktivität der Reptilase nicht (12) oder nur wenig (100). Heparin, Heparinoide und Hirudin vermindern die Aktivität des Enzyms nicht (38); dies kann nur durch TAME geschehen (12).

Als Stammlösung wird der Inhalt einer Reagens-Charge (Reptilase-R, Pentapharm, Basel) mit 1 ml aqua dest. gelöst.

0,3 ml Citratplasma werden 30 sec bei 37°C inkubiert und die Gerinnungszeit nach Zugabe von 0,1 ml der Reptilase-Stammlösung gemessen.

Arvinzeit

So wie die Reptilase ist das aus Akistrodon rhodostoma

gewonnene Enzym Arvin dem Thrombin ähnlich. Es hat ein Molekulargewicht von 30.000 (7, 39). Durch Arvin wird ausschließlich das Fibrinopeptid A mit seinen Derivaten AP und AY abgespalten (39). Die Polymerisation der Fibrinmonomere geschieht wie bei der Reptilase End-zu-End. Auch Arvin wird nicht durch Heparin, Heparinoide, Hirudin und Antithrombine in seiner Aktivität gehindert.

0,1 ml Citratplasma und 0,1 ml aqua dest. werden bei 37°C 30 sec inkubiert und dann mit 0,1 ml der Stammlösung versetzt, die durch Lösen einer Reagens-Charge (akistrodon rhodostoma, Behringwerke, Marburg) mit 1 ml aqua dest. hergestellt wird. Die Zeit von der Zugabe der Stammlösung bis zur Gerinnung wird gemessen.

Thrombincoagulasezeit

Seit 1903 ist bekannt, daß einige Sphylkokkenstämme Plasma gerinnen lassen (65). Diese Aktivität der Staphylokokken-Coagulase kommt erst durch die Verbindung mit einem Plasmafaktor, dem "Coagulase reacting factor" (91), der mit Prothrombin identisch ist (88), zustande.

Die Thrombin-Coagulase ist die Verbindung zwischen Coagulase und Prothrombin; sie aktiviert den Faktor XIII nicht, F V und F IX bleiben unverändert, F VIII wird zerstört (88).

Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte beeinflussen die Aktivität der Thrombin-Coagulase, Heparin, Heparinoide und Hirudin dagegen nicht (87, 88).

1 Charge Thrombincoagulase (Hemodiagnostica Stago, Vertrieb durch Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim) mit 5 NIH-E/ml wird in 0,5 ml aqua bidest. gelöst. Nachdem 0,2 ml Citratplasma 2 min bei 37°C inkubiert wurden, werden 0,2 ml der Thrombincoagulaselösung zugegeben und die Zeit bis zum Gerinnungseintritt gestoppt.

Fibrinogen nach ASTRUP (3)

Das Fibrinogen wird hier durch die TyrosinÄquivalente bestimmt. Das Plasma wird rekalkifiziert und - zusätzlich mit Thrombin versetzt - zur Gerinnung gebracht. Das so entstandene Gerinnsel wird in Natronlauge denaturiert und der Gehalt des dabei frei werdenden Tyrosins mit Hilfe des Phenol-Reagens photometrisch gemessen.

0,25 ml Citratplasma und 1,0 ml NaCl-Trasytol (250 E/ml) werden mit in 0,5 ml CaCl_2 gelösten 30 E Thrombin 60 min bei 37°C inkubiert. Anschließend wird das mit einem ange-
rauten Glasstab herausgedrehte Gerinnsel in aqua dest. und NaCl-Trasytol gewaschen und 45 min im Wasserbad bei 100°C in 1,0 ml 2N NaOH gekocht. Dann werden 2,0 ml 1N HCl und 7,0 ml aqua dest. dazu gegeben. Von dieser Lösung werden 2,5 ml mit 1,5 ml 20% Na_2CO_3 und 2,5 ml Phenol-Reagens (1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt) versetzt. Nach einer Inkubationszeit von 30 min bei Raumtemperatur wird am Zeiss-Photometer PM 4 bei 700 nm (Spaltbreite 10, Verstärkung 8, 1 cm OS-Küvetten) die Extinktion abgelesen.

Der Gehalt an Fibrinogen wird aufgrund der Extinktion gegen einen Leerwert nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Fbg (mg/100 ml)} = \frac{E \times 2340 \times 2}{2,9733} = E \times 1574$$

Quantitative immunologische Bestimmungen nach MANCINI (68)

Die Partigen-Immunodiffusionsplatten (Behringwerke Marburg) enthalten in einer Agargelschicht das spezifische Plasma-protein-Antiserum.

a) α_2 -Makroglobulin

In die Aussparungen einer Partigen-Immundiffusionsplatte Behring α_2 -Makroglobulin werden mit einer Hamilton-Mikroliterspritze 2 μ l des 1:4 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Citratplasmas eingefüllt.

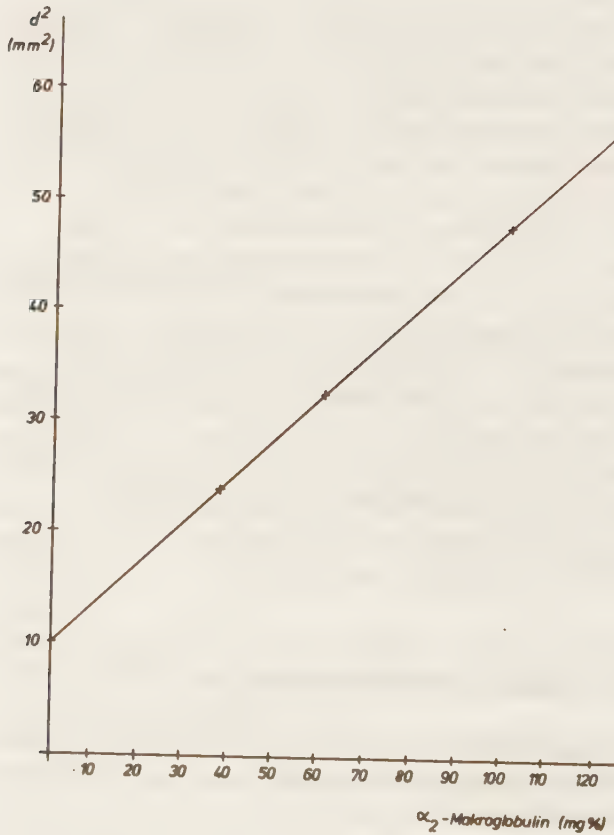


Abb. 4: Eichkurve α_2 -Makroglobulin

Die Eichkurve wurde mit Standard-Human-Serum Behring, Op.-Nr. 570 G, aufgestellt.

Die Bestimmungen werden im Citratplasma durchgeführt, nachdem durch gleichzeitige Bestimmung des α_2 -Makroglobulingehaltes in Citratplasma und Serum von 15 gesunden Erwachsenen im Alter von 18 - 40 Jahren festgestellt wurde, daß der α_2 -Makroglobulinspiegel im Citratplasma um 13,44 % niedriger liegt als im Serum.

b) Antithrombin III

In die Aussparungen der Partigen-Antithrombin III-Platten werden mit einer Eppendorf-Pipette 5 μ l des 1:2 mit physiologischer NaCl verdünnten Citratplasmas gegeben. Die Eichkurve wurde mit Citratplasma von 20 gesunden Erwachsenen im Alter von 18 - 40 Jahren so erstellt, daß der Antithrombin III - Gehalt des Pools dieser 20 Plasmaproben gleich 100 % gesetzt wurde.

Der Gehalt an Antithrombin III wird hier in Prozent der Norm (% d.N.) angegeben.

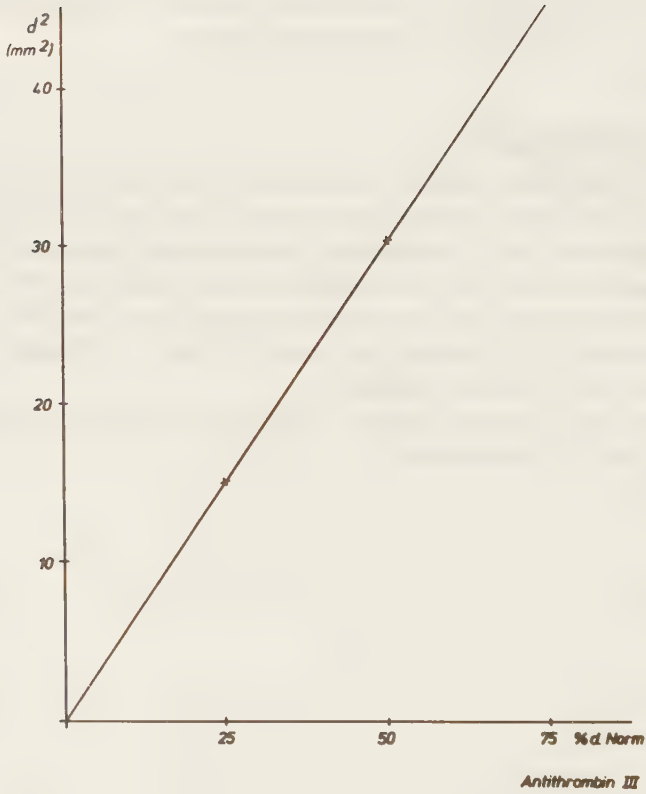


Abb. 5: Eichkurve Antithrombin III

c) Fibrinogen

Die Bestimmung erfolgt wie bei dem alpha-2-Makroglobulin. Hier werden 2 μ l Citratplasma, 1:4 und 1:8 mit physiologischer NaCl verdünnt, in die Aussparungen der Partigen-Fibrinogen-Platte eingefüllt.

Die Eichkurve wurde mit einer Fibrinogen-Lösung (Fibrinogen Kabi) erstellt.

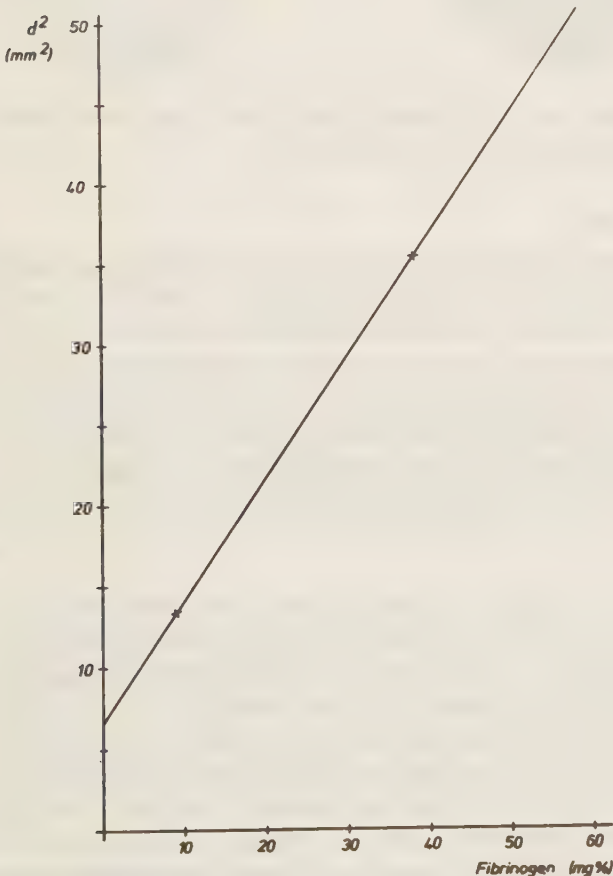


Abb. 6: Eichkurve Fibrinogen

Die Auswertung erfolgt bei diesen immunologisch-quantitativen Bestimmungen in gleicher Weise:

48 Stunden nach Beschickung der Platten wird der Durchmesser der entstandenen Präzipitationsringe mittels einer Meßschablone gemessen. Aufgrund dieses Wertes kann mit der Eichkurve, auf der das Quadrat des Ringdurchmessers auf der Ordinaten, der Gehalt an Antigen auf der Abszisse aufgetragen ist, die Konzentration des gemessenen Plasmaproteins errechnet werden.

Zum Nachweis von Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten (FDP) werden folgende Tests durchgeführt:

a) Latex-Test

Der Latex-Test ist ein semiquantitativer Test zum Nachweis von Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten. Es werden sowohl die frühen als auch die späten Spaltprodukte erfaßt (71).

Das Latex-Reagens ist eine kolloidale Suspension hydrophober Partikel mit einer Größe von etwa $0,8 \mu\text{m}$, die mit Antikörpern überzogen sind. Kommen diese Latex-Partikel mit den als Antigene wirkenden Spaltprodukten zusammen, so tritt eine makroskopisch sichtbare Agglutination auf (Abb. 7).

Das zu untersuchende Serum wird mit Glycin-Puffer pH 7,4 1:2,5, 1:5, 1:10 usw. in einer geometrischen Reihe verdünnt. Mit einer $20 \mu\text{l}$ Eppendorfpipette werden $20 \mu\text{l}$ des 1:2,5 verdünnten Serums auf eine Glasplatte zu $20 \mu\text{l}$ der Latex-Suspension (Thrombo-Wellcotest KT 08, Wellcome, Beckenham/England) gegeben und mit einem Holzstäbchen zu einem Kreis von etwa 3 cm Durchmesser verrührt. Die Platte wird dann leicht hin und her bewegt. Gleichzeitig wird eine Stoppuhr in Gang gesetzt und nach 120 Sekunden abgelesen, ob eine Agglutination eingetreten ist oder nicht.



Abb. 7: Latex-Test: Links: keine Agglutination
Rechts: deutliche Agglutination

Bei positivem Ausfall wird der Test mit steigender Verdünnungsreihe durchgeführt, bis nach 120 Sekunden keine Agglutination mehr auftritt. Die Menge der Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte ergibt sich aus der höchsten Verdünnungsstufe, die noch eine Agglutination nach 2 Minuten hervorruft.

Die Empfindlichkeit des Latex-Tests wurde mit Citratplasma, dessen Fibrinogengehalt mit der Tyrosinmethode nach ASTRUP (3) bestimmt worden war, mit einer Fibrinogen-Lösung von 100 mg/100 ml (Human-Fibrinogen Kabi) und mit Lösungen der isolierten Spaltprodukte X, Y, D und E ^{x)} geprüft. Folgende Mengen an FDP werden noch erfaßt (Tab. 1):

x) Ich danke Herrn Dozent Dr. med. W. Krause und Herrn Dr. med. R. Matthias für die Herstellung der isolierten Spaltprodukte.

Fibrinogen	1,97 ± 0,12	µg/ml
Fragment X	1,77 ± 0,20	µg/ml
Fragment Y	2,12 ± 0,09	µg/ml
Fragment D	2,12 ± 0,09	µg/ml
Fragment E	2,22 ± 0,17	µg/ml

Tab. 1: Empfindlichkeit des Latex-Tests (45)

b) Staphylococcal-Clumping-Test

Der SCT ist ein semiquantitativer Test, mit dem Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte nachgewiesen werden.

Benutzt wird hier der Stamm *Staphylococcus aureus* Newman D₂C (FSP-Testbesteck, Behringwerke, Marburg), der Coagulase-negativ ist und an der Oberfläche den Clumping Factor besitzt.

Kommt eine Suspension dieser Staphylokokken mit FDP-haltigem Serum aus Thrombin-geronnenem Blut zusammen, gibt es eine makroskopisch sichtbare Agglutination der Staphylokokken. Mit diesem Test werden die Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte X, Y und D erfaßt (Tab. 2).

Das zu untersuchende Serum wird mit Tris-Puffer pH 7,4 in einer geometrischen Reihe verdünnt. Von dieser Verdünnung werden 20 µl mit einer Eppendorf-Pipette zu 20 µl der Staphylokokken-Suspension, die durch Lösen einer Reagens-Charge in 1 ml aqua dest. hergestellt wird, auf ein Bioplate gegeben und hin und her bewegt. Nach 120 Sekunden wird abgelesen, ob eine Agglutination eingetreten ist oder nicht.

Gesucht wird die höchste Verdünnungsstufe, die nach 2 Minuten noch eine Agglutination erkennen läßt.

Es wird immer ein Leerwert mitgeführt, der an Stelle der Serumverdünnung Tris-Puffer pH 7,4 enthält.

Die Empfindlichkeit wurde wie beim Latex-Test mit Citratplasma bekannter Fibrinogen-Konzentration, einer Fibrinogen-Lösung und mit Lösungen der isolierten Spaltprodukte X, Y, D und E geprüft. Im Vergleich zum Latex-Test werden folgende Mengen an FDP noch erfaßt (Tab. 2):

	<u>Latex-Agglutinations-Test</u>	<u>Staphylococcal-Clumping-Test</u>
Fibrinogen (/ul/ml)	1,97 $\pm$ 0,12	0,025 $\pm$ 0,005
Fragment X (/ul/ml)	1,77 $\pm$ 0,20	0,220 $\pm$ 0,027
Fragment Y (/ul/ml)	2,12 $\pm$ 0,09	0,560 $\pm$ 0,065
Fragment D (/ul/ml)	2,12 $\pm$ 0,09	0,250 $\pm$ 0,049
Fragment E (/ul/ml)	2,22 $\pm$ 0,17	> 2000

Tab. 2: Vergleich der Empfindlichkeit des Latex-Tests mit der des Staphylococcal-Clumping-Tests (45)

Der Normbereich an Spaltprodukten liegt bei 2,5 - 8,0 μ g/ml (2, 20).

Fibrinmonomere (SFMC = soluble fibrin-monomer complexes)

Das Auftreten von SFMC - sie entstehen bei der thrombin-abhängigen Proteolyse des Fibrinogens - wird als ein Ergebnis einer lokalen oder kontinuierlichen Gerinnung und Fibrinolyse betrachtet.

Folgende Tests wurden zum Nachweis von Fibrinmonomerkomplexen durchgeführt:

a) Protaminsulfat-Hämatokrit (PS-HK) nach LIPINSKI (63)

Zu 1,0 ml Citratblut wird 0,1 ml einer 1%igen Protaminsulfat-Lösung gegeben und das Gemisch nach 10 min Inkubation bei Raumtemperatur in ein nicht-heparinisier-tes Mikro-Hämatokrit-Röhrchen aufgezogen und 5 min bei

3000 rpm zentrifugiert. Der Gehalt an löslichen Fibrinmonomer-Komplexen ergibt sich aus einem weißen Präzipitat, das sich auf der roten Säule niederschlägt. Dieses Präzipitat wird als Prozentanteil zum Gesamtvolumen der Hämatokrit-Probe in Beziehung gebracht.

b) Äthanol-Test nach GODAL (30)

0,5 ml Citratplasma werden mit 0,15 ml 50%igem Äthanol vermischt. Nach 10 min. Inkubation bei Raumtemperatur kann das Ergebnis dann abgelesen werden: eine Gelbildung bedeutet das Vorhandensein von Fibrinmonomeren.

Euglobulinlyse-Zeit nach MILSTONE (73)

Die proteolytisch aktiven Komponenten des Fibrinolyse-Systems, vor allem aber der Proaktivator-Plasminogen-Komplex, fallen in verdünnten Lösungen bei saurem pH aus, da sie zur Euglobulinfraktion des Blutes gehören. Die physiologischen Inhibitoren dagegen bleiben in Lösung. Die Euglobulinlyse-Zeit zeigt eine eventuell vorhandene gesteigerte fibrinolytische Aktivität an.

Citratblut wird 10 min bei 1000 rpm zentrifugiert, 0,5 ml Plasma vom Überstand abpipettiert, mit 7,5 ml aqua dest. und 0,13 ml 1%iger Essigsäure versetzt und nach Durchmischen 2 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Diese Lösung wird dann 10 min bei 3000 rpm zentrifugiert und der Überstand dann abgeschüttet. Der Niederschlag wird in 0,9 ml Diäthylbarbital-Puffer pH 7,6 aufgelöst, dann werden 0,1 ml Thrombin (25 E/ml) zugegeben. Bei 37°C wird diese Lösung dann inkubiert und die Zeit bis zum Eintritt der Lyse gemessen.

Die Bestimmung von Calcium, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin, SGOT, SGPT und die Durchführung der Elektrophoresen auf Zellulose-Acetat-Folien erfolgte im Zentrum für Klinische Chemie, Immunologie und Humangenetik (Gf. Dir.: Prof. Dr. L. Roka).

Die Typisierung der Paraproteine wurde im Labor von Prof. Dr. K. Huth / Doz. Dr. F.W. Schmahl durchgeführt.

Die Bestimmung der Partiellen Thromboplastinzeit (PTT), der Thromboplastinzeit (Quick), der Thrombozytenfaktor-3-Freisetzung, der Thrombozytenzahl und des Gehaltes an den Faktoren II, V, VIII, X erfolgte im Gerinnungslabor des Zentrums für Innere Medizin (Gf. Dir.: Prof. Dr. H.G. Lasch).

Die Blutgas-Parameter pH und $p\text{CO}_2$ wurden im Kreißsaal des Zentrums für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe (Gf. Dir.: Prof. Dr. R. Kepp) am Klinikum der Justus Liebig-Universität Gießen durchgeführt.

III STATISTISCHE AUSWERTUNG :

Folgende Berechnungen werden ausgeführt:

1) Mittelwert $\bar{x}$

Der Mittelwert $\bar{x}$ einer Stichprobe mit den Einzelwerten $x_1, x_2, x_3, \dots$ ist definiert als Summe aller Einzelwerte, dividiert durch deren Gesamtzahl n .

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

2) Standardabweichung s

Die Standardabweichung s gibt an, wie stark die Einzelwerte um den Mittelwert streuen. Sie ist das Maß zur Abgrenzung des Normbereichs, dessen Grenzen durch Übereinkommen festgelegt sind. Bei einem normal verteilten Kollektiv kann man innerhalb des Bereichs $\bar{x} \pm 2 s$ im Durchschnitt 95,5 % der beobachteten Werte erwarten.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

3) F-Test

Der F-Test wird benutzt, um zu prüfen, ob die Stichproben aus Grundgesamtheiten gleicher Varianz stammen (Varianzhomogenität), oder aus unterschiedlicher (Varianzheterogenität).

Die Prüfung auf Varianzhomogenität und -heterogenität erfolgte anhand der "Wissenschaftlichen Tabellen, Geigy" (21) und SACHS (81).

$$F = \frac{S_{\max}^2}{S_{\min}^2}$$

4) t-Test nach Student:

Mit dem t-Test wird geprüft, ob sich die unterschiedlichen Mittelwerte bei unabhängigen Stichproben zufällig oder nicht zufällig unterscheiden.

a) bei Varianzhomogenität:

für $n_1 = n_2$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

für $n_1 \neq n_2$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\left(\frac{\sum (x_1 - \bar{x})^2 + \sum (x_2 - \bar{x})^2}{N_1 + N_2 - 2} \right) \left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}}$$

b) bei Varianzheterogenität:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Die Prüfung auf Signifikanz erfolgte anhand der "Wissenschaftlichen Tabellen, Geigy" (21) und SACHS (81), wonach für $p < 0,05$ eine Signifikanz vorliegt.

$$df = n_1 + n_2 - 2$$

5) Regression, Regressionsgerade, Regressionskoeffizient:

Oft bestehen zwischen zwei oder mehr Variablen funktionelle Beziehungen, die aber durch zufällige Einflüsse überdeckt werden können.

Die Regression prüft, ob durch Verändern der einen Variablen eine Veränderung der anderen Variablen verursacht wird.

Man unterscheidet zwei Regressionsgeraden:

$$Y = \bar{y} + b_{xy}(x - \bar{x})$$

$$X = \bar{x} + b_{yx}(y - \bar{y})$$

b_{xy} und b_{yx} sind die Regressionskoeffizienten:

$$b_{xy} = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{N \sum y^2 - (\sum y)^2}$$

$$b_{yx} = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{N \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

Die Steigung der Geraden wird durch $\cos b_{xy}$ und $\cos b_{yx}$ bestimmt. Die Geraden verlaufen durch den Schnittpunkt von $\bar{x}$ und $\bar{y}$.

6) Korrelationskoeffizient r

Der Korrelationskoeffizient ist ein Maß für die stochastische Abhängigkeit der beiden Variablen x und y . Sein Wert kann zwischen $+1$ und -1 variieren.

Beträgt er $+1$ oder -1 , so sind die beiden Variablen völlig voneinander unabhängig, und die Regressionsgeraden fallen zusammen.

Beträgt er Null, so besteht keine Abhängigkeit, und die Geraden stehen senkrecht aufeinander und verlaufen koordinatenparallel.

$$a) \quad r = \frac{N \sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{[N \sum x^2 - (\sum x)^2][N \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

$$b) \quad r = \sqrt{b_{xy} \cdot b_{yx}}$$

c) Rangkorrelation nach Spearman:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d^2}{n(n^2 - 1)}$$

$$d = R_x - R_y$$

$$R = \text{Rang}$$

Die Prüfung der Korrelationskoeffizienten r und r_s auf Signifikanz erfolgte anhand der "Wissenschaftlichen Tabellen, Geigy" (21) und SACHS (81).

$$df = n - 2$$

IV Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrinumwandlung bei Paraproteinämie ^{x)}

Einleitung

SHAPIRO berichtete 1943 erstmals von einer hämorrhagischen Diathese und einer Verlängerung der Prothrombinzeit im Zusammenhang mit einem multiplen Myelom (84). Etliche Mitteilungen in den darauffolgenden Jahren haben diesen Befund bei Patienten mit einer Paraproteinämie bestätigt (10, 17, 19, 26, 48, 54, 55, 75, 77, 96, 98, 99, 100). Als Ursache dieser Thrombinzeitverlängerung wurde die von LOELIGER u. HERS (66) beschriebene Wirkung des Antithrombin V geltend gemacht. Auf die Wahrscheinlichkeit einer Hemmung der Fibrinpolymerisation durch das zirkulierende Antikoagulans, das die Thrombin-Fibrinreaktion unbeeinflusst läßt, wiesen VERMYLEN und VERSTRAETE hin (97). Der Nachweis einer gestörten Fibrinmonomeraggregation durch Paraproteine als Erklärung für die Ursache der Thrombinzeitverlängerung wurde seit den Untersuchungen von KRICK und MENACHE (48) mehrfach geführt.

Untersuchungen an einer größeren Zahl von Patienten mit Paraproteinämien mit der Frage einer pathologischen Fibrinogen-Fibrinumwandlung liegen bisher nicht vor. Diese Frage soll hier bei 25 Patienten, bei denen in den letzten 3 Jahren im Zentrum für Innere Medizin die Diagnose einer Paraproteinämie gestellt wurde, untersucht werden.

In diesem Zusammenhang werden eingehende Untersuchungen hinsichtlich der Beeinflussung von Paraproteinen auf die Thrombozytenfunktion nicht durchgeführt. Die in der Literatur hierzu mitgeteilten Befunde zeigen verschiedene Ergebnisse. So konnte LACKNER (54) keine Beeinflussung der

x) Ein Teil dieser Ergebnisse wurde auf der 80. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, Wiesbaden, 21.-25.4.1974, vorgetragen (70).

Thrombozytenfunktion sehen, während VIGLIANO und HOROWITZ (99) zeigten, daß IgA-Paraproteine mit Kollagen einen Komplex bilden und deshalb die Thrombozytenaggregation ausbleibt. Die Kopräzipitation von Paraproteinen mit Gerinnungsfaktoren wurde von einigen Untersuchern für das Auftreten einer hämorrhagischen Diathese hervorgehoben (37, 72).

Material und Methoden

Bei 25 Patienten mit einer Paraproteinämie werden vor Beginn einer Therapie im plättchenarmen Citratplasma und Serum Gerinnungsuntersuchungen durchgeführt. Auf Einzelheiten der Methodik und Reagenzien wird in Kapitel II näher eingegangen.

Es werden folgende Untersuchungen durchgeführt:

Fibrinogen, Fibrinogen-Fibrinospaltprodukte (FDP), Thrombinzeit, Reptilasezeit, Arvinzeit, Thrombincoagulasezeit, Thromboplastinzeit (Quick-Wert), partielle Thromboplastinzeit (PTT), die Faktoren II, V, VIII, X, Thrombozytenzahl, Antithrombin III, α -2-Makroglobulin, Thrombelastogramm.

Die Bestimmung der gamma-Globulinkonzentration wurde im Zentrum für Klinische Chemie, Immunologie und Humangenetik (Gf. Direktor: Prof. Dr. L. Roka) mit der Elektrophorese auf Zellulose-Acetat-Folien durchgeführt. Auch die Bestimmungen von Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin, Serumcalcium, SGOT und SGPT wurden dort vorgenommen. Die Typisierung der Paraproteine erfolgte im Labor Prof. Dr.

K. Huth / Doz. Dr. F.W. Schmahl im Zentrum für Innere Medizin.

Die ermittelten Ergebnisse werden mit den im Kapitel III beschriebenen Methoden auf eine gegenseitige Abhängigkeit überprüft.

Ergebnisse

Es werden 25 Patienten mit einer Paraproteinämie untersucht. 22 Patienten haben ein IgG-Plasmozytom, 1 Patient ein IgA-Plasmozytom, 2mal wird eine IgM-Makroglobulinämie Waldenström diagnostiziert. Die Patienten, 17 Männer und 8 Frauen, sind zwischen 52 und 78 Jahre alt.

Die mittlere Fibrinogenkonzentration aller 25 Patienten beträgt mit der Tyrosin-Methode $303,08 \pm 139,2$ mg/100 ml, der immunologisch ermittelte Wert ergibt $357,9 \pm 174,2$ mg/100 ml. Beide Werte unterscheiden sich signifikant vom Normalbereich ($p < 0,005$) (Tab. 3).

Bei 8 Patienten (=32%) wird im Serum eine erhöhte Konzentration an Fibrinogen-Fibrinospaltprodukten (FDP) mit Werten zwischen 10 - 30 $\mu\text{g/ml}$ (Normalbereich: 2,5 - 8 $\mu\text{g/ml}$ (2, 20)) nachgewiesen (Abb. 8) (Tab. 3).



Abb. 8: Fibrinogen-Fibrinspaltprodukte (FDP):
Vergleich zwischen einer Gruppe mit Paraprotein-
ämie und einer Kontrollgruppe

Die Thrombinzeit ist mit $25,72 \pm 8,84$ sec im Vergleich zum Normalbereich ($16,68 \pm 2,14$ sec) mit $p < 0,001$ signifikant verlängert (Abb. 9) (Tab. 3) ebenso die Reptilasezeit mit $25,56 \pm 7,95$ sec (Normalbereich $17,74 \pm 1,91$ sec, $p < 0,001$) (Abb. 10) (Tab. 3).

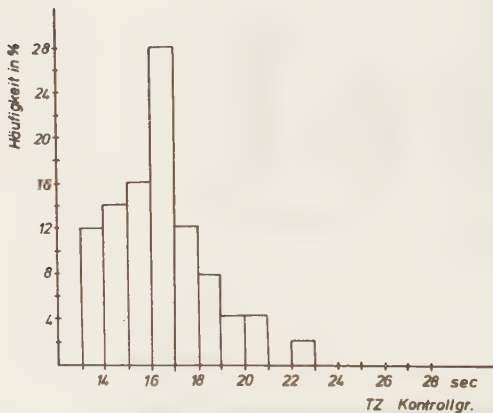
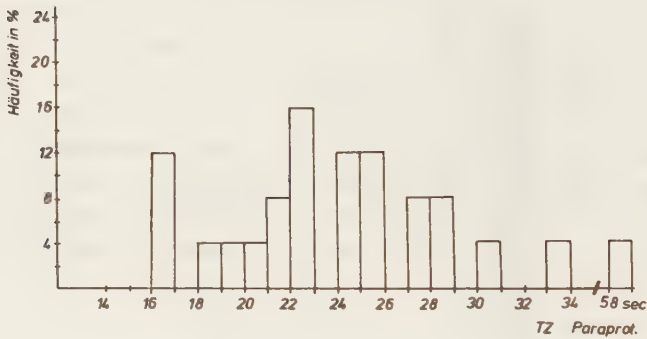


Abb. 9: Thrombinzeit: Vergleich einer Gruppe mit Paraproteinämie und einer Kontrollgruppe

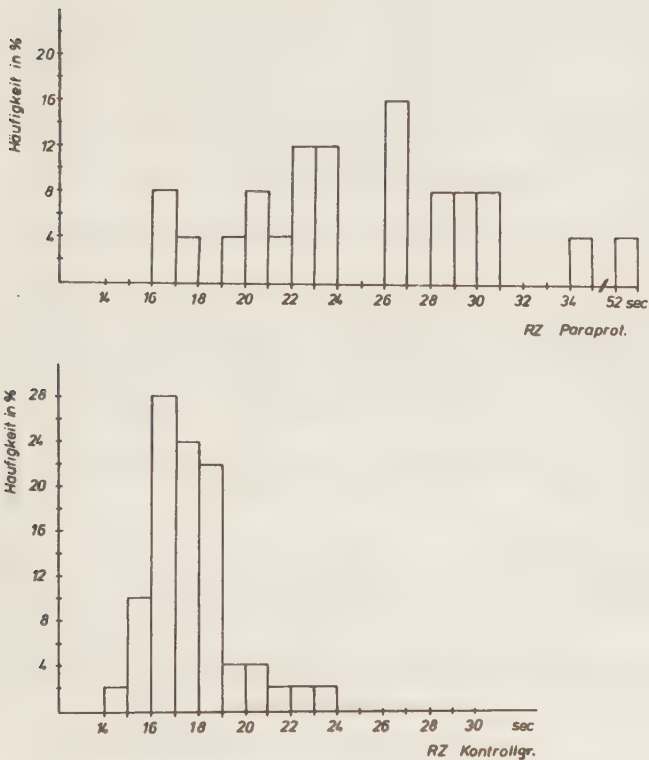


Abb. 10: Reptilasezeit: Vergleich einer Gruppe mit Paraproteinämie und einer Kontrollgruppe

Auch die Arvinzeit ist mit $25,12 \pm 7,15$ sec (Normbereich $18,16 \pm 2,45$ sec) signifikant verlängert ($p < 0,001$). Die Thrombincoagulasezeit liegt mit $24,13 \pm 6,91$ sec noch deutlich über dem Normalbereich von $17,94 \pm 1,30$ sec. Der Unterschied ist mit $p < 0,005$ signifikant (Tab. 3).

		n	$\bar{x}$	s	p
Fibrinogen (Tyrosin) (mg/100 ml)	P	25	303,08	139,2	< 0,005
	N	50	219,38	73,73	
Thrombin- zeit (sec)	P	25	25,72	8,84	< 0,001
	N	50	16,68	2,14	
Reptilase- zeit (sec)	P	25	25,56	7,95	< 0,001
	N	50	17,74	1,91	
Arvinzeit (sec)	P	25	25,12	7,15	< 0,001
	N	50	18,16	2,45	
Thrombin- coagulase- zeit (sec)	P	25	24,13	6,91	< 0,005
	N	30	17,94	1,30	
Fibrinogen- Fibrin- Spaltprodukte (μ g/ml)	P	25	davon	17	< 10 μ g/ml
				3	10 - 20 μ g/ml
				5	20 - 30 μ g/ml
	N	50	davon	45	< 10 μ g/ml
				5	10 - 20 μ g/ml

N = Normalgruppe

P = Paraproteinämiepatienten

Tab. 3: Gerinnungsbefunde bei Paraproteinämie

Das immunologisch bestimmte Antithrombin III liegt mit $100,85 \pm 14,6$ % im Normbereich ($103,20 \pm 21,4$ %), das alpha-2-Makroglobulin ist mit $107,94 \pm 44,1$ mg/100 ml im Vergleich zur Kontrollgruppe ($149,84 \pm 36,8$ mg/100 ml mit $p < 0,005$ signifikant vermindert (Tab. 4).

		n	$\bar{x}$	s	p
Antithrombin III (%)	P	25	100,85	14,6	> 0,5
	N	50	103,20	21,4	
α_2 -Makroglobulin (mg/100 ml)	P	25	107,94	44,1	< 0,005
	N	50	149,84	36,8	

N = Normalgruppe

P = Paraproteinämiepatienten

Tab. 4: Gerinnungsbefunde bei Paraproteinämie

Das Gesamteiweiß ist mit 8,7 g/100 ml im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht, wobei die gamma-Globulinkonzentration 3,15 g/100 ml beträgt (Abb. 11) (Tab. 5).

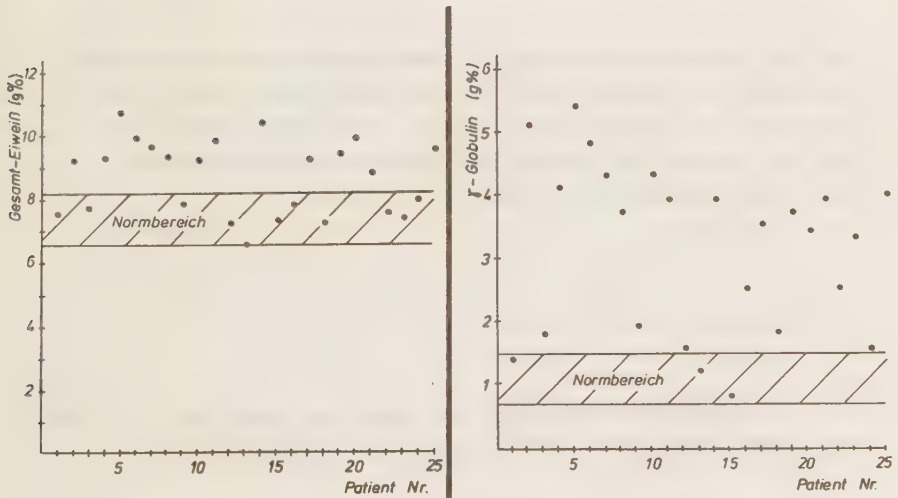


Abb. 11: Gesamteiweiß und gamma-Globulin bei Paraproteinämie

	n	$\bar{x}$	s	Normalwerte (nach 42)
Gesamteiweiß (g/100 ml)	25	8,7	1,01	5,50 - 9,40
Albumin (g/100 ml)	25	3,72	0,58	3,70 - 5,20
α_1 -Globulin (g/100 ml)	25	0,32	0,29	0,10 - 0,40
α_2 -Globulin (g/100 ml)	25	0,78	0,48	0,50 - 1,00
β -Globulin (g/100 ml)	25	0,74	0,38	0,60 - 1,20
γ -Globulin (g/100 ml)	25	3,15	1,08	0,60 - 1,60

Tab. 5: Elektrophoresewerte bei Paraproteinämie

Für die Reptilasezeit und die gamma-Globulinkonzentration läßt sich mit der Rangkorrelation eine signifikante Abhängigkeit errechnen ($r_s = 0,454$ $p < 0,05$) (Abb. 12). Für die Thrombin-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten kann keine Abhängigkeit gefunden werden.

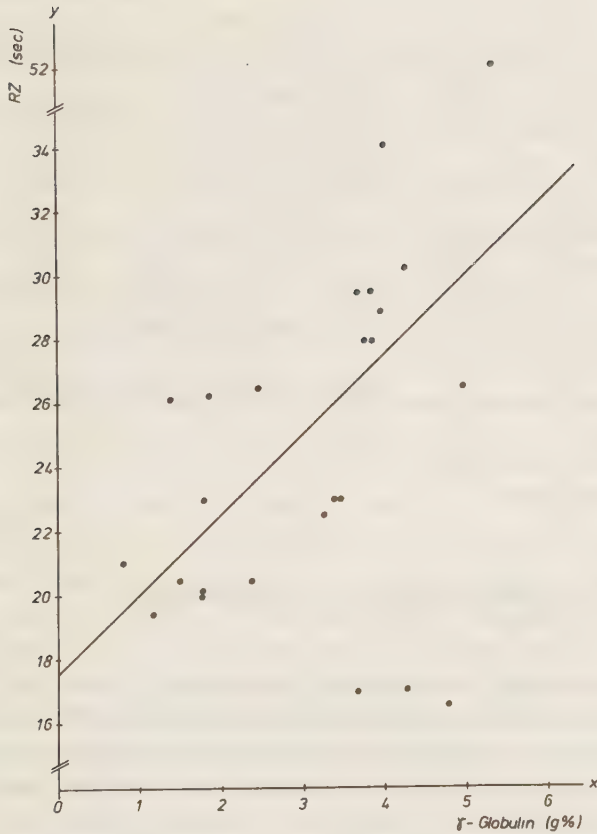


Abb. 12: Beziehung zwischen der gamma-Globulinkonzentration und der Reptilasezeit bei Paraproteinämie

Die Untersuchung der Gerinnungsfaktoren II, V, VIII, X, der partiellen Thromboplastinzeit (PTT) und der Thromboplastinzeit (Quick-Wert) ergeben ebenso wie die Thromb-

elastographie und die Thrombozytenzahl Werte im unteren Normalbereich (Tab. 6).

	n	$\bar{x}$	s	Normalwerte
Quick (%)	20	89,0	4,59	93 $\pm$ 12
PTT (sec)	20	40,2	2,39	40,0 $\pm$ 4,5
Faktor II (%)	12	80,8	20,5	98,2 $\pm$ 8,2
V (%)	17	89,2	19,2	100,2 $\pm$ 5,2
VIII (%)	11	93,6	26,0	136,0 $\pm$ 55
X (%)	13	96,9	8,4	97,0 $\pm$ 3,6
TEG mc(mm)	15	52,4	14,3	51,7 $\pm$ 6,3
Thrombozytenzahl $\times 10^3$ (/ μ l)	20	146,0	45,9	190,9 $\pm$ 61

Tab. 6: Gerinnungsbefunde bei Paraproteinämie

Serumcalcium (6,8 mval/l) und Harnsäure (7,9 mg/100 ml) sind erhöht, während Harnstoff, Kreatinin, SGOT und SGPT im Normbereich liegen. Die BSG ist bei allen Patienten stark beschleunigt: der 1-Stunden-Wert liegt im Durchschnitt bei 83 mm nach Westergren, nach 2 Stunden bei 98 mm (Tab. 7).

	n	$\bar{x}$	s
Harnstoff (mg/100 ml)	16	38,0	1,92
Harnsäure (mg/100 ml)	16	7,9	0,94
Kreatinin (mg/100 ml)	16	0,92	0,42
Serumcalcium(mval/l)	16	6,8	1,04
SGOT (mU/ml)	16	11,5	1,2
SGPT (mU/ml)	16	10,3	1,08
BSG (mm) nach	1 Stunde	25	83
	2 Stunden	25	98
			19,6
			18,9

Tab. 7: Befunde bei Paraproteinämie

Diskussion:

Eine verlängerte Thrombinzeit bei Paraproteinämie wurde von einigen Autoren in einer Häufigkeit zwischen 14 und 32 % gefunden (26, 75). COHEN (16), LACKNER (94) und COLEMAN (17) zeigten, daß die verlängerte Thrombinzeit bei Paraproteinämie auf einer Störung der Fibrinmonomeraggregation beruht. Über eine Verlängerung der Reptilasezeit liegen nur wenige Angaben vor (17, 40, 94, 99, 100). Da die Reptilase, ähnlich wie Heparin, durch Antithrombine nicht beeinflußt wird (12), wurde die inhibitorische Wirkung des im Paraproteinämieplasma vorhandenen Antikoagulans so interpretiert, daß sie gegen eine nicht thrombinabhängige Stufe der Fibrinogen-Fibrinumwandlung gerichtet ist. UEHLINGER (96) und LÜSCHER und LABHART (67) erklärten die verlängerte Thrombinzeit bei Paraproteinämie mit einer gestörten Fibrinogen-Fibrinumwandlung. COLEMAN konnte mit isolierten Paraproteinen die Fibrin-

monomeraggregation hemmen und eine Abhängigkeit der inhibitorischen Aktivität von der Konzentration des Paraproteinplasmas zeigen (17).

Bei den hier untersuchten 25 Patienten mit Paraproteinämie liegt bei 21 Patienten (=84%) eine zum Normalbereich signifikant verlängerte Thrombinzeit vor, die nicht durch die Anwesenheit von Fibrinogen-Fibrinospaltprodukten (FDP) bedingt ist ($r = 0,233$). Noch stärker als die Thrombinzeit und ebenfalls signifikant ist die Reptilasezeit bei 22 Patienten (=88%) verlängert. Diese Verlängerungen zeigen deutlich den Einfluß der Paraproteine als Inhibitoren der Fibrinogen-Fibrinumwandlung auf der Stufe der Monomeraggregation. Für die Reptilasezeit und die gamma-Globulinkonzentration läßt sich eine signifikante Abhängigkeit errechnen ($r_s = 0,454$ $p < 0,05$). Möglicherweise besitzen die durch die Abspaltung von Fibrinopeptid A frei gewordenen Polymerisationsorte am N-terminalen Aminosäurende der Fibrinmonomere für die Paraproteine eine besondere Bedeutung als Angriffspunkte für die Hemmung der Fibrinmonomeraggregation. Hierbei muß jedoch auch an einen Zufallsbefund gedacht werden, da sich für die Arvinzeit diese Abhängigkeit nicht ergibt, obwohl durch Arvin ebenso wie durch Reptilase das Fibrinopeptid A abgespalten wird. Die Arvinzeit ist bei 17 Patienten (=68%), die Thrombincoagulasezeit bei 21 Patienten (=84%) signifikant verlängert.

Die Bedeutung der Paraproteine als Inhibitoren der Fibrinmonomeraggregation ist noch nicht geklärt. RATNOFF konnte zwischen pathologischen Proteinen und einer verlängerten Thrombinzeit keine Abhängigkeit feststellen (80). Ähnliche Befunde wurden von FRICK (26) und COLEMAN (17) gefunden.

Das Auftreten erhöhter, pathologischer Konzentrationen von Fibrinogen-Fibrinospaltprodukten (FDP) als Zeichen ei-

ner erhöhten fibrinolytischen Aktivität wurde nur vereinzelt mitgeteilt (75, 79). Bei den hier untersuchten 25 Patienten zeigen 8 Patienten (=32%) eine gering erhöhte FDP-Konzentration.

Die bei 5 von 25 Patienten bestehende geringe hämorrhagische Diathese ergibt mit der signifikant verlängerten Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit keine Korrelation. Eine hämorrhagische Diathese wird wahrscheinlich erst dann manifest werden, wenn mehrere der oben beschriebenen Veränderungen innerhalb der plasmatischen und thrombozytären Seite der Gerinnung ineinandergreifen.

Untersuchungen von Patienten mit einer kongenitalen Dysfibrinogenämie haben gezeigt, daß die Störung der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung schon sehr stark ausgeprägt sein muß, um eine hämorrhagische Diathese hervorzurufen, wie das bei einem Patienten mit "Fibrinogen Gießen" (44) nachgewiesen wurde.

Zusammenfassung

Es wurden bei 25 Patienten mit einer Paraproteinämie Gerinnungsuntersuchungen durchgeführt. Bei 5 Patienten bestand eine geringe hämorrhagische Diathese.

In mehr als 80% der Fälle wurden Verlängerungen der Thrombin-, Reptilase- und Thrombincoagulasezeiten, bei 68% eine verlängerte Arvinzeit gefunden, als deren Ursache eine durch die Paraproteine gestörte Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung herausgestellt wurde. Für die Reptilasezeit ergab sich darüber hinaus eine Abhängigkeit von der gamma-Globulinkonzentration der untersuchten Paraproteinämieplasmen.

Zwischen den einzelnen Gerinnungszeiten und der hämorrhagischen Diathese wurde keine Korrelation gefunden. Von Patienten mit einer kongenitalen Dysfibrinogenämie ist bekannt, daß der Defekt der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung sehr ausgeprägt sein muß, um eine hämorrhagische Diathese zu verursachen.

V Untersuchungen zum Einfluß der Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte auf die Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit

Einleitung

Bei der Gerinnung, die durch das proteolytische Enzym Thrombin induziert wird, entstehen Fibrinmonomere, während es bei der Proteolyse des Fibrinogen/Fibrin durch Plasmin zum Auftreten von Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten kommt.

Eine verlängerte Thrombinzeit durch erhöhte Konzentrationen von Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten, wie sie bei einer durch Plasmin hervorgerufenen Fibrinolyse vorkommen, ist hinreichend bekannt (1, 18, 56, 60, 95).

Von NIEWIAROWSKI und KOWALSKI (74) und TRIANTOPHYLLOPOULOS (94) wurden die Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte wegen ihrer Thrombinzeit-verlängernden Wirkung, die aus der Hemmung der enzymatisch bedingten Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung resultiert, als Antithrombin VI bezeichnet. LATALLO (60), ALKJAERSIG (1) und LARRIEU (56) konnten diesen Effekt als Hemmung der Fibrinpolymerisation nachweisen.

Ein gleichzeitiges Zusammenwirken der beiden erwähnten Eigenschaften fand LATALLO (59).

Die bei der therapeutisch induzierten intravasalen Fibrinolyse entstehenden Spaltprodukte sollen hier auf den Grad der Hemmung der Fibrinpolymerisation mit der Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit untersucht werden, wobei gleichzeitig die Frage nach der Beeinflußbarkeit der benutzten Testsysteme durch die Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte gestellt wird.

Material und Methoden

Es werden 15 Patienten untersucht, bei denen wegen einer chronischen arteriellen Verschlusskrankheit eine Fibrinolyse mit Streptokinase (Streptase^R, Behringwerke Marburg) durchgeführt werden mußte: Die Patienten erhielten eine Initialdosis von 250.000 IE innerhalb von 15 Minuten nach den Dosierungsrichtlinien von SCHMUTZLER (82). Die nachfolgende Dosierung wurde so eingestellt, daß die Thrombinzeit auf das 2 - 4 fache der Norm verlängert war. Innerhalb eines Zeitraums von 3 - 5 Stunden nach Beginn der Lyse und somit vor der Gabe von Heparin wurden die Blutproben entnommen.

Im plättchenarmen Plasma und Serum werden folgende Untersuchungen durchgeführt:

Fibrinogen, Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte, Thrombinzeit, Reptilasezeit, Arvinzeit, Thrombincoagulasezeit, Antithrombin III und alpha-2-Makroglobulin.

Auf Einzelheiten der Methodik und Reagenzien wird in dem Kapitel II näher eingegangen.

Ergebnisse

Der Mittelwert des mit der Tyrosin-Methode bestimmten Fibrinogens liegt mit $166,21 \pm 9,09$ mg/100 ml im unteren Normbereich, die Einzelwerte schwanken zwischen 40,0 mg/100 ml und 228,2 mg/100 ml. Der Unterschied zur Kontrollgruppe ($219,38 \pm 73,73$ mg/100 ml) ist nicht signifikant. Der immunologisch ermittelte Fibrinogengehalt ergibt eine mittlere Konzentration von $348,16 \pm 80,71$ mg/100 ml, hierbei ist der Unterschied zur Kontrollgruppe ($278,10 \pm 49,32$ mg/100 ml) mit $p < 0,001$ signifikant. Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den mit beiden Methoden gemessenen Fibrinogen-Konzentrationen läßt sich jedoch nicht errechnen ($p > 0,5$) (Tab. 8). Die Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte (FDP) die bei der durch Plasmin induzierten Fi-

brinolyse entstehen, kommen in allen 15 untersuchten Fällen in sehr stark erhöhten Konzentrationen vor: alle Werte sind um mehr als das dreifache der normalen FDP-Konzentrationen von $< 10 \mu\text{g/ml}$ (20) erhöht (Tab. 8).

		n	$\bar{x}$	s	p
Fibrinogen (Tyrosin) (mg/100 ml)	L	15	166,21	9,09	$> 0,5$
	K	50	219,38	73,73	
Fibrinogen (immunologisch) (mg/100 ml)	L	10	348,16	80,71	$< 0,001$
	K	50	278,10	49,32	
Fibrinogen- Fibrin- Spaltprodukte (FDP) ($\mu\text{g/ml}$)	L	15	davon	0	$< 30 \mu\text{g/ml}$
				2	$30 - 40 \mu\text{g/ml}$
				3	$40 - 50 \mu\text{g/ml}$
				3	$50 - 60 \mu\text{g/ml}$
				2	$60 - 70 \mu\text{g/ml}$
				1	$70 - 80 \mu\text{g/ml}$
				2	$80 - 90 \mu\text{g/ml}$
				2	$90 - 100 \mu\text{g/ml}$
				0	$> 100 \mu\text{g/ml}$
	K	50	davon	45	$< 10 \mu\text{g/ml}$
				5	$10 - 20 \mu\text{g/ml}$

L = Lysepatienten
K = Kontrollgruppe

Tab. 8: Gerinnungsbefunde bei Lysepatienten

Der Staphylococcal Clumping-Test, der im Vergleich zum Latex-Agglutinationstest eine weitaus höhere Empfindlichkeit für die Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte zeigt (Tab. 2), bestätigt diese Ergebnisse. Zwischen den im Serum in erhöhten Konzentrationen nachgewiesenen Spaltprodukten und

den immunologisch bestimmten Fibrinogen-Werten läßt sich eine signifikante Abhängigkeit errechnen ($p < 0,05$). Die Thrombinzeit ist mit $52,80 \pm 4,22$ sec im Vergleich zur Kontrollgruppe ($16,68 \pm 2,14$ sec) mit $p < 0,001$ signifikant verlängert. Die Einzelwerte liegen zwischen 33,0 sec und 86,4 sec (Tab. 9). Mit der Rangkorrelation nach Spearman ergibt sich eine hochsignifikante Abhängigkeit zwischen der Thrombinzeit und den Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten ($r_s = 0,858$, $p < 0,001$) (Abb. 13).

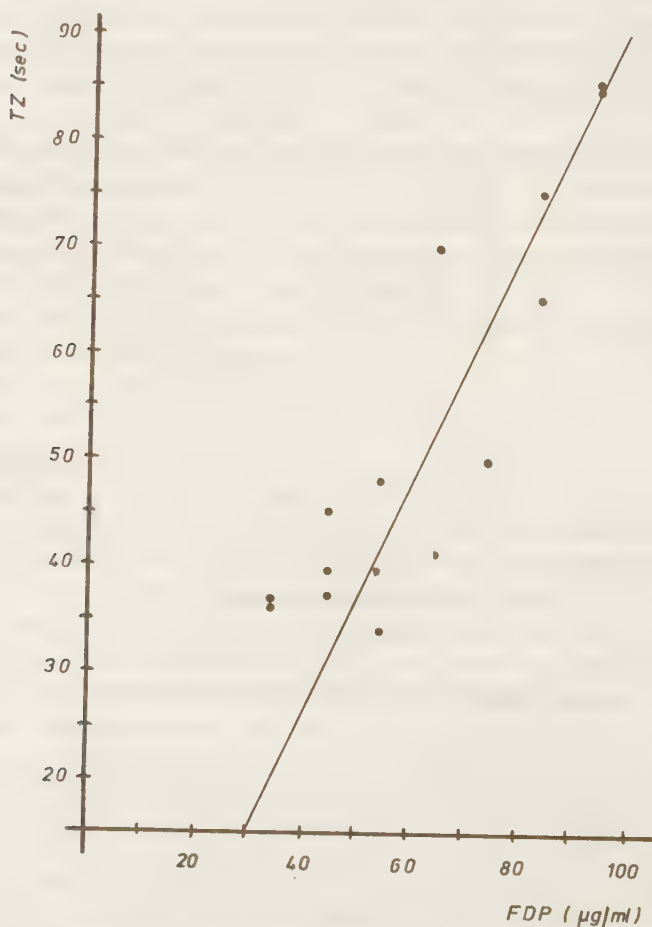


Abb. 13: Beziehung zwischen Thrombinzeit und FDP bei 15 Lysepatienten

Die Reptilasezeit hat einen Mittelwert von $44,34 \pm 3,12$ sec, der Mittelwert für die Kontrollgruppe beträgt $17,74 \pm 1,91$ sec. Der Unterschied ist signifikant ($p < 0,001$). Es werden Einzelwerte im Bereich zwischen 30,2 sec und 62,7 sec gemessen (Tab. 9). Auch hier läßt sich eine signifikante Abhängigkeit zwischen der Reptilasezeit und den Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten errechnen: $r_S = 0,538$, $p < 0,05$ (Abb. 14).

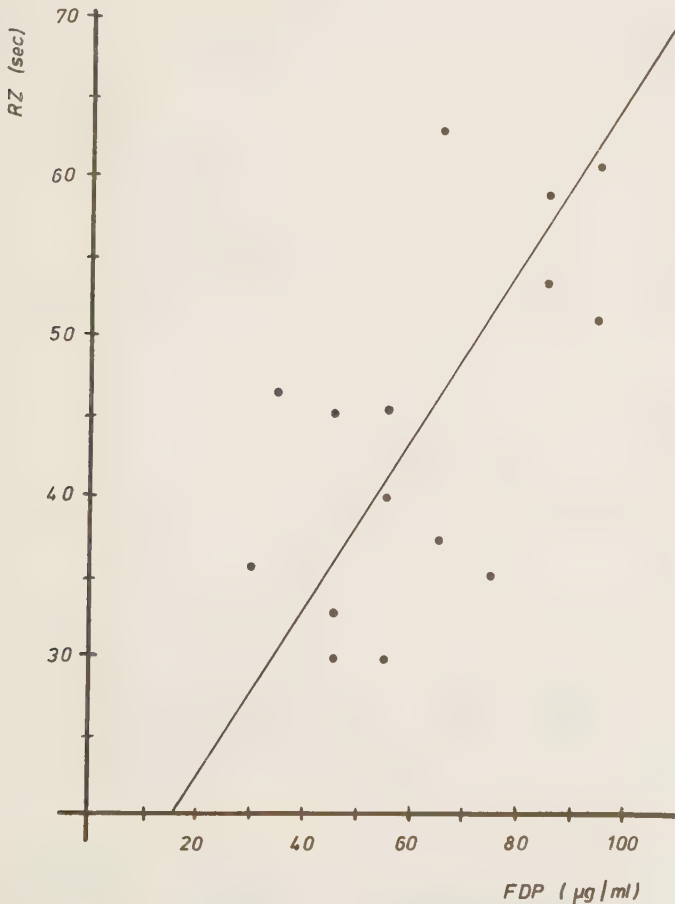


Abb. 14: Beziehung zwischen Reptilasezeit und FDP bei 15 Lysepatienten

Die Arvinzeit ist mit $42,33 \pm 3,68$ sec zur Kontrollgruppe ($18,16 \pm 2,45$ sec) mit $p < 0,001$ signifikant verlängert (Tab. 9). Die Abhängigkeit zur FDP-Konzentration ist hier ebenfalls signifikant: $r_s = 0,645$, $p < 0,01$ (Abb. 15).

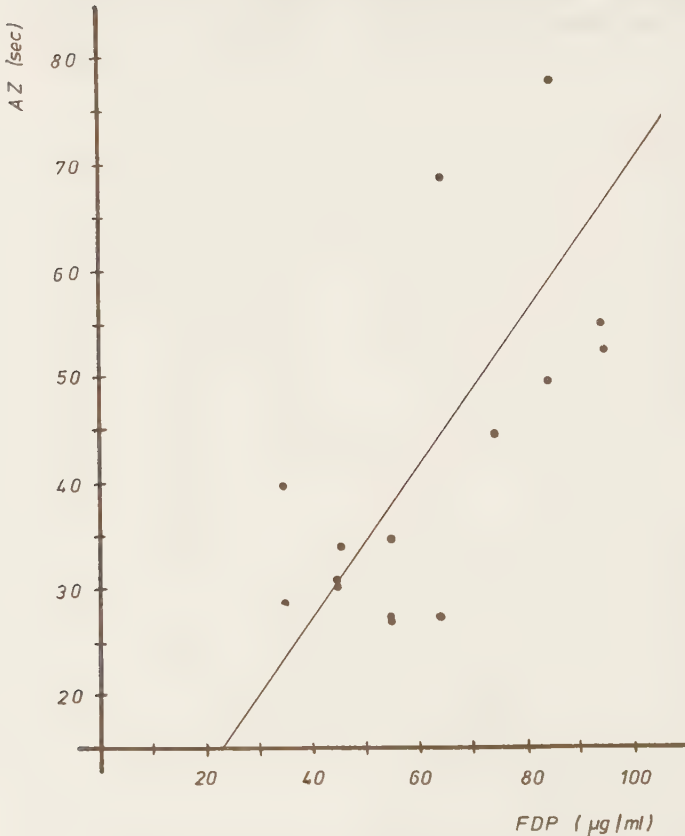


Abb. 15: Beziehung zwischen Arvinzeit und FDP bei 15 Lysepatienten

Die Thrombincoagulasezeit liegt mit $47,67 \pm 3,36$ sec deutlich über der Kontrollgruppe ($17,94 \pm 1,30$, $p < 0,001$) (Tab. 9). Auch bei der Thrombincoagulasezeit läßt sich eine signifikante Abhängigkeit von der FDP-Konzentration errechnen: $r_s = 0,848$, $p < 0,001$ (Abb. 16).

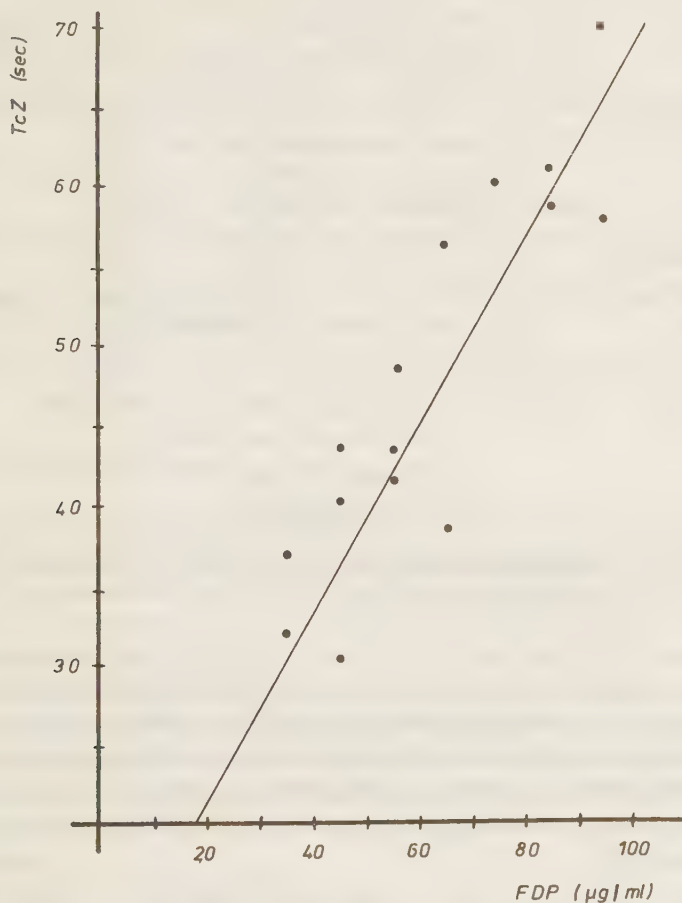


Abb. 16: Beziehung zwischen Thrombincoagulasezeit und FDP bei 15 Lysepatienten

		n	$\bar{x}$	s	p
Thrombinzeit (sec)	A	15	17,02	1,94	< 0,001
	L	15	52,80	4,22	
	K	50	16,68	2,14	
Reptilasezeit (sec)	A	15	17,93	1,99	< 0,001
	L	15	44,34	3,12	
	K	50	17,74	1,91	
Arvinzeit (sec)	A	15	18,01	2,44	< 0,001
	L	15	42,33	3,68	
	K	50	18,16	2,45	
Thrombin- coagulasezeit (sec)	A	15	18,21	1,32	< 0,001
	L	15	47,67	3,36	
	K	50	17,94	1,30	

A = Ausgangsbefunde der Patienten
vor Beginn der Lyse

L = Befunde während der Lyse

K = Kontrollgruppe

Tab. 9: Gerinnungsbefunde im Plasma von 15 Patienten vor und während der Lyse

Das immunologisch bestimmte Antithrombin III liegt mit $100,90 \pm 23,2 \%$ im Normbereich ($103,20 \pm 21,4 \%$), das alpha-2-Makroglobulin ist mit $125,00 \pm 8,80 \text{ mg/100 ml}$ gerade noch signifikant vermindert ($p < 0,4$), liegt aber noch im unteren Normbereich von $149,84 \pm 36,8 \text{ mg/100 ml}$ (Tab. 10):

		n	$\bar{x}$	s	p
Antithrombin III (%)	A	15	102,54	21,9	> 0,5
	L	15	100,90	23,2	
	K	50	103,90	21,4	
α_2 -Makroglobulin (mg/100 ml)	A	15	148,24	9,95	< 0,4
	L	15	125,00	8,80	
	K	50	149,84	36,8	

A = Ausgangsbefunde der Patienten
vor Beginn der Lyse

L = Befunde während der Lyse

K = Kontrollgruppe

Tab. 10: Gerinnungsbefunde im Plasma von 15 Patienten vor und während der Lyse

Diskussion

In Übereinstimmung mit mehreren Autoren (1, 18, 56, 60, 95) wird hier eine stark ausgeprägte Thrombinzeitverlängerung gefunden. Auch die Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten sind deutlich verlängert, wobei die Beobachtung einiger Autoren (22, 62, 90) daß die Verlängerung der Thrombinzeit stärker ausgeprägt ist als die der Reptilasezeit, bestätigt wird ($p < 0,001$).

Die Thrombinzeit ist hier um mehr als das dreifache, die Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit jeweils um das zweieinhalbfache im Vergleich zur Kontrollgruppe verlängert.

Bei allen Gerinnungszeiten ergibt sich eine signifikante Abhängigkeit von der Konzentration der Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte (Abb. 13 - 16).

TRIANTOPHYLLOPOULOS und TRIANTOPHYLLOPOULOS (95) erklärten den Einfluß der Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte auf die Thrombinzeit durch ihre Wirkung als Antithrombin. Da jedoch Reptilase, Arvin und Thrombincoagulase weder durch Heparin und Heparinoiden, noch durch immunologische Antithrombine beeinflußt werden (12, 38, 87, 88), muß zusätzlich auch der Wirkungsmechanismus der Spaltprodukte über die Hemmung der Fibrinmonomerpolymerisation wirksam sein, wie sie unter anderem von LATALLO (60), ALKJAERSIG (1) und LARRIEU (56) gefunden und von BANG (4) im elektronenmikroskopischen Bild gezeigt wurde.

Bei den hier untersuchten Proben liegt die mittlere Fibrinogen-Konzentration bei $166,21 \pm 9,09$ mg/100 ml. Eine Hypofibrinogenämie kann somit als Ursache für die Verlängerung der Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten ausgeschlossen werden, da erst bei einer Fibrinogenkonzentration von unter 75 mg/100 ml eine Verlängerung dieser plasmatischen Gerinnungszeiten zustande kommt (33).

Im Hinblick auf die Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung durch Thrombin sind das progressiv wirkende Antithrombin III und das alpha-2-Makroglobulin von Bedeutung. Beide Werte liegen hier im Normbereich.

Paraproteine und angeborene bzw. erworbene Dysfibrinogenämien können hier als Ursachen für die Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeitverlängerungen ausgeschlossen werden, da sich bei allen Patienten vor Beginn der Streptokinase-Therapie normale Gerinnungsbefunde ergaben ('Tab. 9 - 10).

Zusammenfassung

Es wurden Plasma und Serum von 15 Patienten untersucht, bei denen eine Fibrinolyse mit Streptokinase durchgeführt wurde. Die hier gefundenen verlängerten Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten sind Ausdruck zweier Mechanismen: einmal der Hemmung der enzymatisch bedingten Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung, zum anderen der gestörten Fibrinpolymerisation.

Die im Vergleich zur Reptilasezeitverlängerung stärker ($p < 0,001$) ausgeprägte Thrombinzeitverlängerung läßt die Hemmung der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung in beiden Abschnitten deutlich erkennen.

Bei allen Gerinnungszeiten ergibt sich eine signifikante Abhängigkeit von der Konzentration der im Serum nachgewiesenen Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte.

VI Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung im Nabelschnurblut x)

Einleitung

Wiederholt wurde mit Plasma aus Nabelvenenblut eine im Vergleich zum Erwachsenenplasma verlängerte Thrombinzeit gefunden (24, 28, 29, 57). Für diese Verlängerung konnte weder ein pathologisch hoher Gehalt an Heparin (24, 28, 29, 57), noch an Fibrinogen-Fibrinspaltprodukten verantwortlich gemacht werden (13, 24, 28, 29).

GMÜR u.a. (28, 29) gaben eine fibrinolytische Alteration des Neugeborenenfibrinogens aufgrund der bei 65% der Neugeborenen nachgewiesenen erhöhten fibrinolytischen Aktivität als Ursache für eine Thrombinzeitverlängerung im Neugeborenenplasma an.

KÜNZER postulierte ein "fetales Fibrinogen" - diese Bezeichnung gab BURSTEIN (14) dem "Nabelvenen-Fibrinogen" - und konnte dessen Existenz durch etliche Untersuchungen nachweisen (49, 51 - 53).

WITT et. al. (102) sowie WITT und HASLER (101) bestätigten diese Ergebnisse.

Das fetale Fibrinogen soll eine andere Primärstruktur als das Erwachsenenfibrinogen haben, beziehungsweise eine chemische Modifikation darstellen (102). WITT et al. (102) zeigten, daß bei der Chromatographie an DEAE-Zellulose eine Ladungsdifferenz zwischen Neugeborenen- und Erwachsenenfibrinogen besteht. Die Fingerprints der tryptischen Peptide wiesen 3 Peptide mit verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit auf: die größere Beweglichkeit hatten die

x) Ein Teil dieser Ergebnisse wurde auf dem IV. Intern. Congr. on Thrombosis and Haemostasis, June 19 - 22, 1973, Vienna, vorgetragen (47) und in der Klin. Wschr. 51, 94 (1973) veröffentlicht (46).

Peptide des Neugeborenenfibrinogens. Außerdem bestand eine pH-Abhängigkeit der Thrombinzeit im Vergleich zum Erwachsenenfibrinogen.

Ziel dieser Untersuchung ist es, die Frage nach der Ursache der Thrombinzeitverlängerung des Neugeborenen, über die bisher keine einheitliche Ansicht vorliegt, erneut aufzugreifen.

Material und Methoden:

Untersucht wird das Blut von 100 reifen Neugeborenen (50 männliche und 50 weibliche) mit mindestens 11/4 Punkten nach dem Zahlenstatus nach SALING oder 9 Punkten nach dem Apgar-Schema. x)

Sofort nach der Geburt wird die v. umbilicalis mit einer V2A-Kanüle 1,20 x 38 mm punktiert und mit einer 5ml - Einmal-Polypropylenspritze, in der zur Plasmagewinnung 0,5 ml 3,8% Natr. citr. als Antikoagulans mit 250 E/ml Trasylol als Antifibrinolytikum vorgelegt waren, 4,5 ml Blut schonend aspiriert. Direkt nach der Abnabelung wird aus dem placentaren Anteil der Nabelschnur zur Serumgewinnung 4,5 ml Blut zu einer Vorlage von 0,5 ml Thrombin (20 E/ml) mit Trasylol (250 E/ml) angesaugt.

Auf Einzelheiten der Methodik und Reagenzien wird in dem Kapitel II näher eingegangen.

Folgende Gerinnungsuntersuchungen werden im Citratplasma und Serum durchgeführt:

Fibrinogen, Fibrinogen-Fibrinspaltprodukte (FDP), Throm-

x) Für die Unterstützung bei der Beschaffung des Nabelschnurblutes danke ich den Ärzten und Hebammen des Kreißsaales des Zentrums für Frauenkrankheiten und Geburtshilfe (Gf. Direktor: Prof. Dr. R. Kepp) am Klinikum der Universität Gießen recht herzlich.

binzeit, Reptilasezeit, Arvinzeit, Thrombincoagulasezeit, Antithrombin III, alpha-2-Makroglobulin, Äthanoltest, Euglobulinlysezeit und der Protaminsulfathämatokrit. Im Vollblut werden der Normotest, pH, pCO₂ und der Hämatokrit bestimmt.

Ergebnisse

Der Mittelwert des mit der Tyrosin-Methode bestimmten Fibrinogens liegt bei $178,87 \pm 46,23$ mg/100 ml und unterscheidet sich signifikant von einer Erwachsenen-Kontrollgruppe ($219,38 \pm 73,73$ mg/100 ml, $p < 0,001$). Der immunologisch ermittelte Fibrinogen-Gehalt ergibt eine mittlere Konzentration von $221,90 \pm 46,79$ mg/100 ml, auch hier ist der Unterschied zur Erwachsenengruppe ($278,10 \pm 49,32$ mg/100 ml) mit $p < 0,001$ signifikant (Tab. 11).

		n	$\bar{x}$	s	p
Fibrinogen (Tyrosin) mg/100 ml	N	100	178,87	46,23	< 0,001
	E	50	219,38	73,73	
Fibrinogen (immunologisch) mg/100 ml	N	100	221,90	46,79	< 0,001
	E	50	278,10	49,32	
Thrombinzeit (sec)	N	100	18,53	2,26	< 0,001
	E	50	16,68	2,14	
Reptilasezeit (sec)	N	100	23,11	2,24	< 0,001
	E	50	17,74	1,91	
Arvinzeit (sec)	N	100	19,47	2,28	< 0,005
	E	50	18,16	2,45	
Thrombincoagu- lasezeit (sec)	N	35	25,99	2,02	< 0,001
	E	30	17,94	1,30	
Normotest (%)	N	100	58,8	19,67	< 0,001
	E	50	108,2	11,34	

N = Neugeborene; E = Erwachsene

Tab. 11: Gerinnungsbefunde im Nabelschnurblut

Die Thrombinzeit ist mit $18,53 \pm 2,26$ sec im Vergleich zum Erwachsenen-Normalbereich ($16,68 \pm 2,14$ sec) mit $p < 0,001$ signifikant verlängert (Tab. 11). Von 100 untersuchten Thrombinzeiten liegen 45 über der Erwachsenen-Kontrollgruppe (Abb. 17).

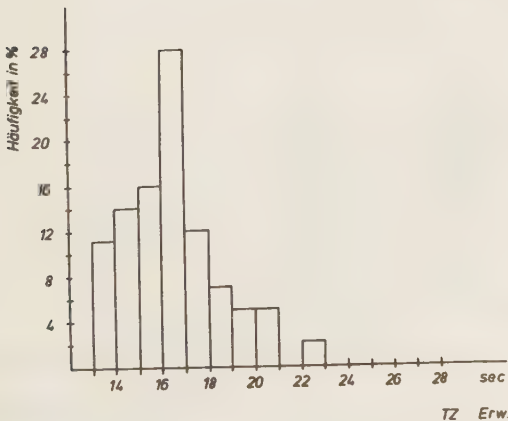
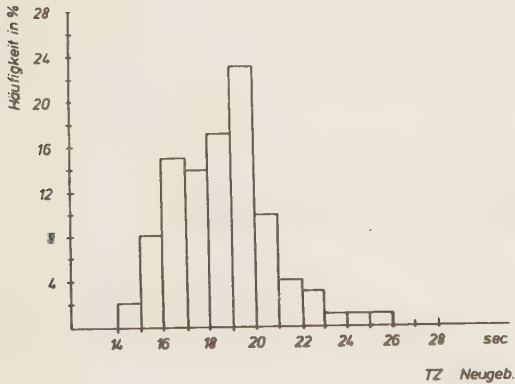


Abb. 17: Thrombinzeit: Vergleich der Neugeborenen mit einer Erwachsenen-Kontrollgruppe

Die hier gefundene signifikante Reptilasezeit-Verlängerung ist im Vergleich zum Erwachsenen-Normbereich noch deutlicher ausgeprägt: 96 von 100 bestimmten Werten liegen mit $23,11 \pm 2,24$ sec über der Kontrollgruppe mit $17,74 \pm 1,91$ sec ($p < 0,001$) (Abb. 18) (Tab. 11).

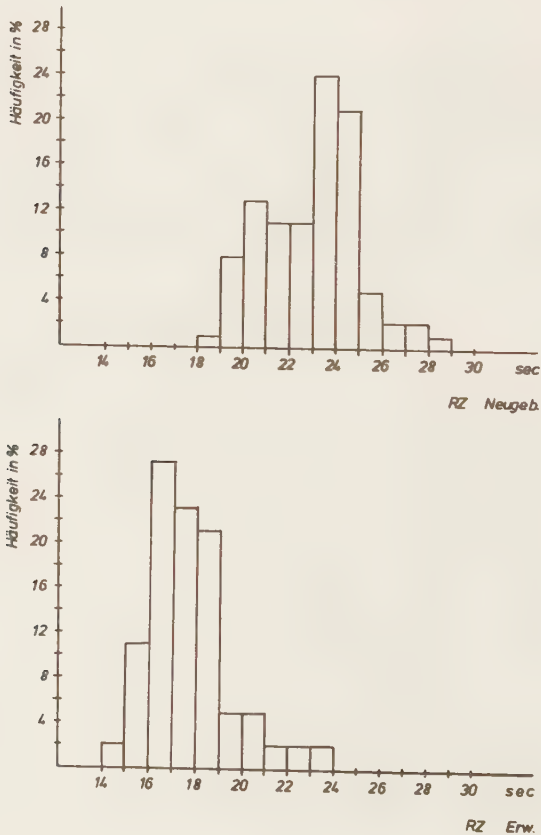


Abb. 18: Reptilasezeit: Vergleich der Neugeborenen mit einer Erwachsenen-Kontrollgruppe

Auch die Arvinzeit ist mit $19,47 \pm 2,28$ sec mit $p < 0,005$ signifikant verlängert. Der Erwachsenen-Normalbereich beträgt $18,16 \pm 2,45$ sec (Tab. 11).

Die Thrombincoagulasezeit der Neugeborenen ergibt einen Mittelwert von $25,99 \pm 2,02$ sec, der Bereich für die Erwachsenen beträgt $17,94 \pm 1,30$ sec. Der Unterschied ist mit $p < 0,001$ signifikant (Tab. 11).

Die mit dem Normotest erfaßten Vitamin K-abhängigen Faktoren II, VII, X zeigen mit $58,8 \pm 19,67$ % eine deutlich verminderte Konzentration gegenüber der Erwachsenen-Kontrollgruppe mit $108,2 \pm 11,34$ %. Der Unterschied ist mit $p < 0,001$ signifikant (Tab. 11).

Das immunologisch bestimmte Antithrombin III liegt mit $75,75 \pm 8,00$ % unter dem Normbereich für Erwachsene ($103,20 \pm 21,40$ %). Der Unterschied ist signifikant: $p < 0,001$ (Tab. 12).

Das alpha-2-Makroglobulin ist mit $221,87 \pm 46,78$ mg/100 ml im Vergleich zur Erwachsenenengruppe ($149,84 \pm 36,84$ mg/100 ml) mit $p < 0,001$ signifikant erhöht, liegt aber noch innerhalb des in der Literatur (36) angegebenen Normalbereichs von 190 - 330 mg/100 ml (Tab. 12).

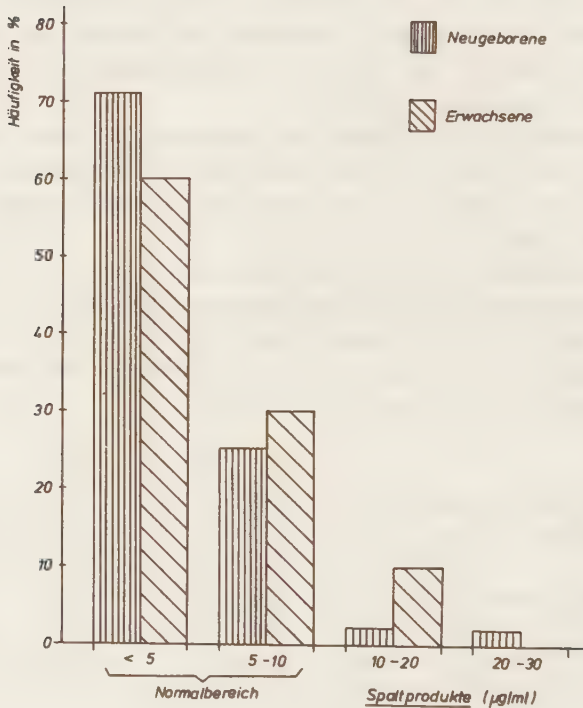
		n	$\bar{x}$	s	p
Antithrombin III (%)	N	100	75,75	8,00	< 0,001
	E	50	103,20	21,40	
α_2 -Makro- globulin (mg/100 ml)	N	100	221,87	46,78	< 0,001
	E	50	149,84	36,84	

N = Neugeborene

E = Erwachsene

Tab. 12: Gerinnungsbefunde im Nabelschnurblut

Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte (FDP) werden nur in 4 von 100 Fällen in pathologischer Konzentration nachgewiesen (Tab. 13, Abb. 19).



Tab. 19: Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte (FDP):
Vergleich zwischen Neugeborenen und Erwachsenen

Der Anteil der Fibrinmonomerkomplexe (SFMC), die durch Protaminsulfat präzipitierbar sind, liegt im Erwachsenen-

Normalbereich. Der Äthanoltest als Nachweis von Fibrinogenmonomeren fällt bei allen 30 untersuchten Proben negativ aus (Tab. 13).

Die bei 40 Neugeborenen untersuchte Euglobulinlysezeit ergibt nur in 4 Fällen auf unter 3 Stunden verkürzte Werte, bei den restlichen 36 Proben liegen die Euglobulinlysezeiten mit Werten von über 4 Stunden im Normbereich (Tab. 13).

Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte (FDP)	n = 100	davon	71	< 5 /ug/ml
			25	5 - 10 /ug/ml
			2	10 - 20 /ug/ml
			2	20 - 30 /ug/ml
Äthanoltest	n = 30	alle	ø	
Euglobulinlyse	n = 40	davon	36	4,5 Std
			2	3,0 Std
			2	2,5 Std

Tab. 13: Gerinnungsbefunde im Nabelvenenblut

Der Hämatokrit liegt mit $48,6 \pm 5,4$ % deutlich über der Kontrollgruppe mit $44,8 \pm 3,9$ %.

Die im Blut der v.umbilicalis bestimmten Blutgas-Parameter pH und pCO_2 liegen innerhalb der in der Literatur (6, 25) angegebenen Normalbereiche (Tab. 14).

	n	$\bar{x}$	s	Normalwerte (nach 6, 25)
pH	15	7,36	0,18	7,20 - 7,39
pCO_2	15	38,9	4,90	39,5 - 45,2

Tab. 14: Blutgasparameter im Nabelvenenblut

Diskussion

In Übereinstimmung mit mehreren Autoren (24, 28, 29, 57) wird hier eine Verlängerung der Thrombinzeit gefunden. Die Reptilasezeit, über die bisher noch keine Publikationen vorliegen, ist noch deutlicher als die Thrombinzeit verlängert (47). Die hier im Neugeborenen-Plasma gefundene Fibrinogen-Konzentration liegt an der unteren Grenze des Erwachsenen-Normalbereiches und stimmt mit einem großen Teil der in der Literatur (5, 28, 33, 92, 93) für das Neugeborenen-Fibrinogen angegebenen Werte überein. Auch verminderte Konzentrationen wurden angegeben (8, 9, 49, 50). Bei den hier untersuchten Proben liegt der Streubereich zwischen 132 mg/100 ml und 224 mg/100 ml. Eine Hypofibrinogenämie kann somit als Ursache für die Verlängerung der Thrombin- und Reptilasezeit ausgeschlossen werden, da erst bei Fibrinogen-Konzentrationen unter 75 mg/100 ml eine Thrombin- und Reptilasezeitverlängerung zustande kommt (33). Zum Ausschluß von heparinähnlichen Antithrombinen werden hier keine Untersuchungen durchgeführt, denn die neben der Thrombinzeit ebenfalls verlängerten Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten, die sich von Thrombininhibitoren wie Heparin, Heparinoiden und immunologischen Antithrombinen unabhängig verhalten (12, 38, 87, 88), weisen auf eine Ursache hin, die nicht von den Inhibitoren der Heparinklasse abhängig ist. Außerdem konnten einige Autoren eine erhöhte Konzentration des endogenen Heparins als Ursache der Thrombinzeitverlängerung im Neugeborenen-Plasma ausschließen (24, 28, 29, 57).

Die als Antithrombin VI bezeichneten Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukte (FDP) hemmen die Polymerisation der Fibrinmonomere, so daß daraus eine Verlängerung der Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeit resultiert (59, 60). Im Neugeborenen-Serum wurden vereinzelt erhöhte Konzentrationen an FDP nachgewiesen (13, 23, 24, 28), wobei als Ursache eine Blutabnahme zur Serumgewinnung ohne

Thrombin und ohne Zusatz eines Fibrinolyseinhibitors anzusehen ist. Hier werden nur bei 4 von 100 untersuchten Neugeborenen erhöhte Konzentrationen an Spaltprodukten gefunden, die über der oberen Grenze des mit $< 10 \mu\text{g/ml}$ angegebenen Normbereichs liegen (2, 20), so daß als Ursache einer Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeitverlängerung pathologische Konzentrationen von Fibrinogen-Fibrin-Spaltprodukten ausgeschlossen werden kann.

GMÜR et al. (28) fanden bei 65 % der untersuchten Neugeborenen eine Alteration des Neugeborenen-Plasmas durch eine erhöhte fibrinolytische Aktivität und erklärten damit die nachgewiesene Thrombinzeitverlängerung. Die hier bei 40 Neugeborenen bestimmte Euglobulinlysezeit ergibt für 90 % Werte im Normbereich. Fibrinogen-Fibrin-Monomer-komplexe lassen sich im Plasma des Neugeborenen mit dem Nachweis einer normalen Konzentration von an Protaminsulfat präzipitierbarem Material ($1,01 \pm 0,3 \%$, $n = 100$) ausschließen. Dieser Befund wird auch durch den negativen Äthanoltest unterstrichen.

Dem Antithrombin III als progressiv wirkendem Antithrombin kommt im Rahmen der durch Thrombin ausgelösten Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung eine große Bedeutung zu. Verschiedentlich wurden für Neugeborene verminderte oder im unteren Normbereich für Erwachsene liegende Konzentrationen gefunden (8, 9, 29, 76). Der Gehalt an Antithrombin III liegt hier mit 75,75 % unter dem Bereich für Erwachsene (103,22 %, $p < 0,001$).

Das alpha-2-Makroglobulin liegt mit einem Mittelwert von 221,87 mg/100 ml im Erwachsenen-Normbereich von 190 - 330 mg/100 ml. Verschiedentlich wurden auch erhöhte Konzentrationen an alpha-2-Makroglobulin beschrieben (23, 27). Für die verlängerten Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten im Neugeborenen-Plasma sind jedoch weder das Antithrombin III noch das alpha-2-Makroglobulin von Relevanz.

Die bekannte Verminderung der Vitamin K-abhängigen Faktoren (49, 50) wird mit dem Normotest, der die Faktoren II, VII, X erfaßt, erneut bestätigt: der Mittelwert im Neugeborenenblut beträgt 58,8 %, im Erwachsenenblut 108,2 % ($p < 0,001$).

Auf den Ausschluß pathologischer Proteine wird hier verzichtet, da Myelome bei Neugeborenen nicht beschrieben sind. In der Literatur ist lediglich ein Fall von Plasmozytom bei einem 7 1/2 jährigen Kind beschrieben (78).

Die für die Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeitverlängerung infrage kommenden Ursachen sind mit den durchgeführten Untersuchungen hinsichtlich der Thrombinzeitverlängerung ebenfalls ausgeschlossen. Durch die Verlängerung der Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten, die nicht durch das Vorhandensein von Heparin, Paraproteinen, einer gesteigerten Fibrinolyse oder Fibrinogenspaltprodukten erklärt werden kann, ergibt sich eine Situation, wie sie bei einer kongenitalen oder erworbenen Dysfibrinogenämie bekannt ist (28, 43, 46).

Diese Befunde werden als indirekter Nachweis einer Störung der Fibrinmonomeraggregation angesehen, wie sie von GUILLIN und MENACHE (31) und KRAUSE (43) an foetalen Fibrinmonomeren direkt nachgewiesen werden konnte.

Zusammenfassung

Es wurde das Nabelschnurblut von 100 Neugeborenen untersucht. Dabei ergab sich eine Bestätigung der im Vergleich zum Normalkollektiv der Erwachsenen schon bekannten Thrombinzeitverlängerung, die bei 45 % der untersuchten Neugeborenen auftrat.

Mit dem erstmaligen Nachweis einer noch deutlicher verlängerten Arvin-, Thrombincoagulase- und vor allem Reptilasezeit (96% der Fälle), wurden für das Neugeborene Parallelen zur Dysfibrinogenämie aufgezeigt.

Als Ursache für diese Veränderungen wurde eine Störung der Fibrinmonomeraggregation nachgewiesen.

VII Allgemeine Zusammenfassung

Die Bedeutung des Fibrinogens im Rahmen der Hämostase des Menschen läßt sich isoliert betrachtet nur schwer zeigen. Das Fibrinogen übernimmt als gerinnbares Protein zusammen mit den Thrombozyten und dem Gefäßsystem die Gewährleistung der Hämostase.

Die ausreichende Thrombinbildung ist die Voraussetzung für eine normale Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung. Die Rate der Fibrinbildung ist von der Fibrinogen-Konzentration abhängig. Bleibt die irreversible Fibrinmonomerpolymerisation aus, so kommt es bedingt durch den Faktor XIII-Mangel zu einer hämorrhagischen Diathese.

Auch Störungen der reversiblen Fibrinmonomeraggregation können zur hämorrhagischen Diathese führen, wie z.B. bei den kongenitalen Dysfibrinogenämien.

Die Bedeutung der Störungen der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung auf der Stufe der reversiblen Fibrinmonomeraggregation wurde bei 25 Patienten mit einer Paraproteinämie herausgestellt. Verlängerte Thrombin-, Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten sind Ausdruck der durch die Paraproteine verzögerten Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung und außerdem der am häufigsten nachzuweisende Gerinnungsdefekt bei Paraproteinämie.

Eine Korrelation zwischen diesem Phänomen und der hämorrhagischen Diathese ergab sich nicht.

Befunde für die Existenz eines fetalen Fibrinogens, analog zum fetalen Hämoglobin, wurden von KÜNZER (51) mitgeteilt.

Die Ursache der verlängerten Thrombinzeit und die darüber hinaus noch deutlicher verlängerten Reptilase-, Arvin- und Thrombincoagulasezeiten konnte bei den hier untersuchten 100 Neugeborenen auf eine Störung der Fibrinmonomeraggregation bezogen werden.

Es ergab sich somit bei den Neugeborenen das Bild einer Dysfibrinogenämie.

Molekulardefekte des Fibrinogens, die nicht genetisch bedingt sind, sondern durch eine Plasminproteolyse des Fibrinogens verursacht, machen sich in einer pathologischen Fibrinmonomeraggregation dieser Derivate bemerkbar.

Im Rahmen einer therapeutischen Fibrinolyse wurden Plasma-proben untersucht. Es zeigte sich, daß sowohl die enzymatisch bedingte Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung als auch eine Störung der Fibrinpolymerisation, wobei der letztere Effekt überwog, nachzuweisen war.

Untersuchungen der Fibrinogen-Fibrin-Umwandlung auf der Stufe der reversiblen Fibrinmonomeraggregation zeigten die Bedeutung dieser Reaktion für die Diagnostik und die klinisch-pathophysiologischen Überlegungen von hämorrhagischen Diathesen.

VIII Literaturverzeichnis

1. ALKJAERSIG, N., FLETCHER, A.P., SHERRY, S.:
Pathogenesis of the coagulation defect developing during pathological plasma proteolytic ("fibrinolytic") states. II. The significance, mechanism and consequences of defective fibrin polymerization.
J. Clin. Invest. 41, 917 (1962)
2. ALLINGTON, M.J.:
Fibrinogen and Fibrin Degradation Products and the Clumping of Staphylococci by Serum.
Brit. J. Haemat. 13, 550 (1967)
3. ASTRUP, T., BRAKMAN, P., NISSEN, U.:
The estimation of fibrinogen.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 17, 57 (1965)
4. BANG, N.U., FLETCHER, A.P., ALKJAERSIG, N., SHERRY, S.:
Pathogenesis of the coagulation defect developing during pathological plasma proteolytic (fibrinolytic) states. III. Demonstration of abnormal clot structure by electron microscopy.
J. clin. Invest. 41, 935 (1962)
5. BECK, E.A.:
Diagnosis of Structural Abnormalities of Human Fibrinogen. Transactions of the Conference Held Under the Auspices of the International Committee on Haemostasis and Thrombosis, Princeton, New Jersey, USA, Nov. 1968
6. BEER, R., BARTELS, H., RACZKOWSKI, H.A.:
Die Sauerstoffdissoziationskurve des fetalen Blutes und der Gasaustausch in der menschlichen Placenta.
Pflügers Archiv ges. Physiol. 260, 306 (1955)
7. BELL, W.R., PITNEY, W.R.:
The Concept of Therapeutic Defibrination. Transactions of the Conference Held Under the Auspices of the International Committee on Haemostasis and Thrombosis, Princeton, New Jersey, USA, Nov. 1968.
In: "Fibrinogen: Structural, Metabolic and Pathophysiologic Aspects", Schattauer, Stuttgart 1970
8. BELLER, F.:
Die Gerinnungsverhältnisse bei der Schwangeren und beim Neugeborenen.
J. A. Barth, Leipzig 1957
9. BELLER, F.:
Neuere gerinnungsanalytische Befunde beim Neugeborenen.
Geburtsh. Frauenheilk. 18, 447 (1958)

10. BENDA, L., DEUTSCH, E., MAMMEN, E.:
Über eine Gerinnungsstörung - Störung bei einem Patienten
mit multiplem Myelom.
Wien. klin. Wschr. 50, 559 (1958)
11. BLOMBÄCK, B.:
The N-terminal disulphide knot of human fibrinogen.
Brit. J. Haemat. 17, 145 (1969)
12. BLOMBÄCK, B., BLOMBÄCK, M., NILSSON, J.M.:
Coagulation studies on "Reptilase", an extract of the
venom from Bothrops jararaca.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 1, 76 (1957)
13. BONIFACI, E., BAGGIO, P., GRAVINA, E.:
Demonstration of Split Products of Fibrinogen in the
Blood of Normal Newborns.
Biol. Neonat. 12, 29 (1968)
14. BURSTEIN, M., LEWI, S., WALTER, P.:
Sur l'existence du fibrinogène foetal.
Sang, 25, 102 (1954)
15. CLEGG, J.B., BAILEY, K.:
The separation and isolation of the peptide chains of
fibrin.
Biochem. Biophys. Acta 63, 525 (1962)
16. COHEN, J., YEHUDA, B., PICK, A., DEVRIES, A.:
Plasma cell myeloma associated with an unusual myeloma
protein causing impairment of fibrin aggregation and
platelet function in a patient with multiple malignancies.
Amer. J. Med. 48, 766 (1970)
17. COLEMAN, M., VIGLIANO, E.M., WEKSLER, M.E., NACHMAN, R.L.:
Inhibition of fibrin monomer polymerization by lambda
Myeloma globulins.
Blood, 39, 210 (1972)
18. COPLEY, A.L., LUCHINI, B.W.:
The binding of human fibrinogen to native and fraction
fibrins and the inhibition of polymerization of a new
human fibrin monomer by fibrinogen.
Life Sciences, 3, 1293 (1964)
19. CRADDOCK, C.G., ADAMS, W.S., FIGUEROA, W.G.:
Interference with fibrin formation in multiple myeloma
by an unusual protein found in blood and urine.
J. Lab. Clin. Med. 42, 847 (1953)
20. DAS, P.C., ALLAN, A.G.E., WOODFIELD, D.G., CASH, J.D.:
Fibrin Degradation Products in Serum of Normal Subjects.
Brit. med. J. 4, 718 (1967)

21. Documenta Geigy,
Wissenschaftliche Tabellen, Ausgabe 1969,
J.R. Geigy A.G. Basel
22. DONATI, M.B., VERMYLEN, J., VERSTRAETE, M.:
Fibrinogen degradation in vivo: effect on the reptilase
time and on the thrombin time.
Scand. J. Haemat. Suppl. XIII, 259 (1970)
23. EKELOUND, H., HEDNER, U., NILSSON, I.:
Fibrinolysis in Newborns.
Acta Paediat. Scand. 59, 33 (1970)
24. v. FELTEN, A., STRAUB, P.W.:
Coagulation studies of cord blood with special reference
to "Fetal Fibrinogen".
Thrombos. Diathes. haemorrh. 22, 273 (1969)
25. FISCHER, W.M., TOUSSAINT, W.:
Über den Säure-Basen-Haushalt beim Neugeborenen.
Untersuchungen in den ersten Lebensminuten.
Arch. Gynäk. 199, 182 (1963)
26. FRICK, P.G.:
Inhibition of conversion of fibrinogen to fibrin by
abnormal proteins in multiple myeloma.
Amer. J. Clin. Path. 25, 1263 (1955)
27. GANROT, P.O., SCHERSTEN, B.:
Determination of alpha₂-macroglobulin concentration and
its variation with age and sex.
Clin. Chim. Acta 15, 113 (1967)
28. GMÜR, J., v. FELTEN, A., STRAUB, W.:
Gerinnungsuntersuchungen an Nabelvenenblut: fetales
Fibrinogen?
Schweiz. med. Wschr. 100, 299 (1970)
29. GMÜR, J.P., v. FELTEN, A., STRAUB, P.W.:
Blutgerinnung und Fibrinolyse im Nabelschnurblut.
II. Befunde im abpunktierten Nabelschnurblut von 140 Neu-
geborenen.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 23, 347 (1970)
30. GODAL, H.C., ABILGAARD, U.:
Gelation of soluble fibrin in plasma by ethanol.
Scand. J. Haemat. 3, 342 (1966)
31. GUILLIN, M.C., MENACHE, D.:
Study on the polymerization of human and bovine foetal
fibrinogen.
Abstract, III. Congress Intern. Soc. Thrombos. Haemostas.,
Washington 1972

32. HARKER, L.A.:
Hemostasis manual.
University of Washington, Seattle, Washington (1970)
33. HAUPT, H., BESEKE, M., v. ZIMMERMANN, H.:
Untersuchungsgang zur Differenzierung von Blutungsübeln
der Neugeburtsperiode.
Klin. Wschr. 37, 220 (1959)
34. HAWIGER, J., NIEWIAROWSKI, S., GUREWICH, V., THOMAS, D.P.:
Measurement of fibrinogen and fibrin degradation products
in serum by staphylococcal clumping test.
J. Lab. clin. Med. 75, 93 (1970)
35. HEIMBURGER, N.:
1. Intern. Symp. on Tissue Factors in the Homeostasis of
the Coagulation-Fibrinolysis-System.
Florenz 1967
36. HEIMBURGER, N., TROBISCH, H.:
Blutgerinnung und Fibrinolyse.
Angewandte Chemie 83, 89 (1971)
37. HENSTELL, H.H., KLIGERMAN, M.:
A new theory of interference with the clotting mechanism.
The complexing of euglobulin with factor V, VII and pro-
thrombin.
Ann. Intern. Med. 49, 371 (1958)
38. HOHNEN, H.W.:
Experimentelle Studien zur Frage der Beeinflussung der
Blutgerinnung durch Reptilase.
Zeitschr. f. ges. exp. Med. 128, 427 (1957)
39. HOLLEMAN, W.H., COHEN, L.J.:
Characterization of peptides released from human fibrino-
gen by Arvin.
Biochem. Biophys. Acta 200, 587 (1970)
40. JOSSO, F., BOUSSEN, M., PROU-WARTELLE, O., FIGUET, H.,
SULTAN, Y., BOUSSER, J.:
Anomalies complexes de la coagulation dans deux cas de
maladie de Kahler avec syndrome hémorrhagique.
Signification du déficit en facteur Stuart au cours
du myélome.
Nouv. Rev. Franc. Hémat. 6, 739 (1966)
41. JÜRGENS, J., BELLER, F.K.:
Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalysen.
Thieme, Stuttgart, 279 (1959)
42. KAPLAN, A., SAVORY, J.:
Clin. Chem. 11, 937 (1965)

43. KRAUSE, W.H.:
Gerinnungsanalytische Untersuchungen zur Fibrinogen-Fibrinumwandlung; zugleich ein Beitrag zur kongenitalen Dysfibrinogenämie.
Habilitationsschrift, Gießen 1973
44. KRAUSE, W.H., HEENE, D.L., LASCH, H.G.:
Congenital Dysfibrinogenemia (Fibrinogen Giessen).
Thrombos. Diathes. haemorrh. 29, 547 (1973)
45. KRAUSE, W.H., MATTHIAS, F.R., MAUS, W.:
Vergleich von Staphylococcal Clumping-Test und Latex-Agglutinations-Test zur Bestimmung isolierter Fibrinogen-Spaltprodukte.
Klin. Wschr. 52, 455 (1974)
46. KRAUSE, W., MAUS, W.:
Die Bedeutung der Reptilasezeit zur Frage des fetalen Fibrinogens.
Klin. Wschr. 51, 94 (1973)
47. KRAUSE, W.H., MAUS, W.:
Reptilase time and foetal fibrinogen.
IV. Intern. Congr. on Thrombosis and Haemostasis,
June 19-22, 1973, Vienna
48. KRICK, J.A., MENACHE, D.:
Anomalie de la polymérisation de la fibrine dans un cas de gamma-A myélome.
Nouv. Rev. franc. d'Hémat. 6, 744 (1966)
49. KÜNZER, W.:
Die Blutgerinnung bei Neugeborenen und ihre Störungen.
Wien. klin. Wschr. 80, 150 (1968)
50. KÜNZER, W.:
Die Blutgerinnung bei Neugeborenen und ihre Störungen.
Klin. Wschr. 49, 1 (1971)
51. KÜNZER, W.:
"Fetales Fibrinogen".
Klin. Wschr. 39, 536 (1961)
52. KÜNZER, W.:
Fetales Fibrinogen. II. Untersuchungen zur fibrinolytischen Resistenz des "Nabelvenen-Fibrins".
Klin. Wschr. 40, 478 (1962)
53. KÜNZER, W.:
Fetales Fibrinogen. III. Untersuchungen zur Thrombinsensibilität des Neugeborenen-Fibrinogens.
Klin. Wschr. 41, 227 (1963)

54. LACKNER, H., HUNT, V., ZUCKER, M.B., PEARSON, J.:
Abnormal Fibrin Ultrastructure, Polymerization and Clot Retraction in Multiple Myeloma.
Brit. J. Haemat. 18, 625 (1970)
55. LARRIEU, M.J., BEAUMONT, J.L., CAEN, J., SELIGMANN, M., BERNARD, J.:
Inhibition de la conversion du fibrinogène au cours d'un myélome.
Rev. franc. Etudes clin. biol. 3, 617 (1958)
56. LARRIEU, M.J., RIGOLLOT, G., MARDER, V.J.:
Comparative effects of fibrinogen degradation fragments D and E on coagulation.
Brit. J. haemat. 22, 719 (1972)
57. LARRIEU, M.J., SOULIER, J.P., MINKOWSKI, A.:
Le sang du cordon ombilical.
Etud. néonat. 1, 39 (1952)
58. LASCH, H.G., ROKA, L.:
Zur Prothrombinbildung in der Leber.
Ztschr. physiol. Chem. 294, 30 (1953)
59. LATALLO, Z.S., BUDZYNSKI, A.Z., LIPINSKI, B., KOWALSKI, E.:
Inhibition of Thrombin and of Fibrin Polymerization, Two Activities derived from Plasmin-digested Fibrinogen.
Nature 203, 1184 (1964)
60. LATALLO, Z.S., FLETCHER, A.P., ALKJAERSIG, N., SHERRY, S.:
Influence of pH, ionic strength, neutral ions, and thrombin on fibrin polymerization.
Amer. J. Physiol. 202, 675 (1962)
61. LATALLO, Z.S., FLETCHER, A.P., ALKJAERSIG, N., SHERRY, S.:
Inhibition of fibrin polymerization by fibrinogen proteolysis products.
Am. J. Physiol. 202, 681 (1962)
62. LATALLO, Z.S., TEISSEYRE, E.:
Evaluation of Reptilase R and Thrombin Time in the Presence of Fibrinogen Degradation Products and Heparin.
Scand. J. Haemat. Suppl. XIII, 261 (1970)
63. LIPINSKI, B., KOTEBLA-WITOWSKA, B., ZAJDEL, M.:
13. Intern. Congr. Haematol. 1970, Abstract
64. LIPINSKI, B., WEGRZYNOWICZ, Z., BUDZYNSKI, A.Z., KOPEC, M., LATALLO, Z.S., KOWALSKI, E.:
Soluble unclottable complexes formed in the presence of fibrinogen degradation products (FDP) during the fibrinogen-fibrin conversion and their potential significance in pathology.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 17, 65 (1967)

65. LOEB, L.:
The influence of certain bacteria on the coagulation of the blood.
J. med. Res. 10, 407 (1903)
66. LOELIGER, A., HERS, G.F.Ph.:
Chronic antithrombinaemia (antithrombin V) with haemorrhagic diathesis in a case of rheumatoid arthritis with hypergammaglobulinaemia.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 1, 499 (1957)
67. LÜSCHER, E., LABHART, A.:
Blutgerinnungsstörung durch beta-, gamma-Globuline; zur Kenntnis der Gerinnungsstörungen durch körpereigenen Antikoagulantien.
Schweiz. med. Wschr. 79, 598 (1949)
68. MANCINI, G., CARBONARA, A.O., HEREMANS, J.F.:
Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.
Immunochem. 2, 235 (1965)
69. MARDER, V.J., SHULMAN, N.R., CARROLL, W.R.:
Trans. Ass. Amer. Physicians, Philadelphia, 80, 156 (1967)
70. MAUS, W., KRAUSE, W.H.:
Blutgerinnung bei Paraproteinämie.
80. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, Wiesbaden, 21.-25.4.1974
71. MELLIGER, E.J.:
Detection of Fibrinogen Degradation Products by Use of Antibody Coated Latex Particles. The Possibilities and Limits of the Method.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 23, 211 (1970)
72. MENACHE, D.:
Action des macroglobulines de la maladie de Waldenström sur la coagulation. Etude in vitro.
Ann. biol. Clin. 20, 169 (1959)
73. MILSTONE, H.:
A factor in normal human blood which participates in streptococcal fibrinolysis.
J. Immunol. 42, 109 (1941)
74. NIEWIAROWSKI, S., KOWALSKI, E.:
Un nouvel anticoagulant dérivé du fibrinogène.
Revue d'Hématologie 13, 320 (1958)
75. NILEHN, J.E., NILSSON, I.M.:
Coagulation studies in different types of myeloma.
Acta med. Scand. 179, Suppl. 445, 194 (1966)

76. PASSARO, G., CACCIANTE, C.:
Antithrombotische Aktivität beim Neugeborenen.
Clin. obstet. gynec. 58, 91 (1956)
77. PERKINS, H.A., MACKENZIE, M.R., FUDENBERG, H.H.:
Hemostatic Defects in Dysproteinemias.
Blood 35, 695 (1970)
78. PORTER, F.S.:
Multiple Myeloma in a child.
J. Pediat. 62, 602 (1963)
79. PRESTON, F.E., LEE, D.:
Fibrinolysis in Myelomatosis.
Acta haemat. 47, 65 (1972)
80. RATINOFF, O.D.:
Delayed blood coagulation in multiple myeloma.
J. clin. Invest. 32, 596 (1953)
81. SACHS, L.:
Statistische Auswertungsmethoden.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 3. Aufl., 1972
82. SCHMUTZLER, R.:
Klinik der thrombolytischen Behandlung.
Internist (Berl.) 10, 23 (1969)
83. SCHWICK, H.G.; HEIMBURGER, N.:
12. Tagung d. Dtsch. Arbeitsgemeinschaft f. Blutgerinnungsforsch., Deidesheim 1968
84. SHAPIRO, S., ROSS, V., MOORE, D.H.:
A viscous protein obtained in large amount from the serum of a patient with multiple myeloma.
J. Clin. Invest. 22, 137 (1943)
85. SORIA, J., SORIA, C., YVER, C., SAMAMA, M.:
Temps de Reptilase. Etude de la polymérisation de la fibrine en présence de Reptilase.
Coagulation 2, 173 (1969)
86. SOULIER, J.P., PROU, O., HALLE, L.:
Further Studies on Thrombin-Coagulase.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 23, 37 (1970)
87. SOULIER, J.P., PROU-WARTELLE, O.:
Staphylocoagulase and Prothrombin. Transactions of the Conference Held under the Auspices of the International Committee on Haemostasis and Thrombosis.
St. Moritz, Switzerland, Sept. 1965
In: "Diffuse Intravascular Clotting", Schattauer, Stuttgart 1966

88. SOULIER, J.P., PROU-WARTELLE, O.:
Study of Thrombin-Coagulase.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 17, 321 (1967)
89. STEINBUCH, M., BLATRIX, C., JOSSO, F.:
Alpha₂-Macroglobulin as Progressive Antithrombin.
Naturf, 216, 500 (1967)
90. STRAUB, P.W., FUNK, C.:
The reptilase time in presence of fibrinogen degradation products.
Scand. J. Haemat. Suppl. XIII, 257 (1970)
91. TAGER, M., DRUMMOND, M.C.:
Staphylocoagulase.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 128, 92 (1965)
92. TAYLOR, P.M.:
Concentration of Fibrinogen in the Plasma of Normal Newborn Infants.
Pediatrics 19, 233 (1957)
93. TREVORROW, V., KASER, M., PATTERSON, J.P., HILL, R.M.:
Plasma Albumin, Globulin and Fibrinogen in healthy individuals from Birth to Adulthood.
J. Lab. clin. Med. 27, 471 (1942)
94. TRIANTOPHYLLOPOULOS, D.C.:
Anticoagulant effect of incubated fibrinogen.
Canadian J. Biochem. Physiol. 36, 249 (1958)
95. TRIANTOPHYLLOPOULOS, E., TRIANTOPHYLLOPOULOS, D.C.:
Thermostable anticoagulant from the anticoagulant fraction of incubated fibrinogen.
Brit. J. Haemat. 11, 331 (1965)
96. UEHLINGER, E.:
Über eine Blutgerinnungsstörung bei Dysproteinämie.
Helv. Medica Acta 16, 508 (1949)
97. VERMYLEN, C., VERSTRAETE, M.:
Antithrombin V : Critical Evaluation of its Assessment and Properties.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 5, 267 (1960)
98. VERSTRAETE, M., VERMYLEN, C.:
Recherches sur l'antithrombine V dans la maladie de Kahler.
1) Acta haemat. (Basel) 22, 240 (1959)
2) Sang 30, 410 (1959)
99. VIGLIANO, E.M., HOROWITZ, H.I.:
Bleeding Syndrome in a Patient with IgA Myeloma:
Interaction of Protein and Connective Tissue.
Blood 29, 823 (1967)

100. VINAZZER, H., REINHARDT, F.:
On the nature of antithrombin V.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 20, 235 (1968)
101. WITT, I., HASLER, K.:
Influence of organically bound phosphorus in foetal and
adult fibrinogen on the kinetics of the interaction be-
tween thrombin and fibrinogen.
Biochim. Biophys. Acta 271, 357 (1972)
102. WITT, I., MÜLLER, H., KÜNZER, W.:
Evidence for the existence of foetal fibrinogen.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 22, 101 (1969)

Herrn Dozent Dr. med. W.H. K r a u s e danke ich sehr herzlich für die Themenstellung und dafür, daß er mir einen Arbeitsplatz in seinem Labor zur Verfügung gestellt, mich in das Gebiet der Gerinnung eingearbeitet und mir wertvolle Anregungen zur Durchführung und Abfassung dieser Untersuchungen gegeben hat.

Lebenslauf

Am 26.1.1948 wurde ich als Sohn der Eheleute Richard und Herta Maus, geb. Wahl, in Bad Nauheim geboren.

1954 erfolgte meine Einschulung in die Grundschule Okarben, 1958 wurde ich in das Altsprachliche Gymnasium der Augustinerschule Friedberg (Wetteraukreis) umgeschult, an der ich im November 1966 die Reifeprüfung bestand.

Vom Wintersemester 1966/67 an studierte ich an der Justus Liebig-Universität Gießen zuerst Psychologie und Naturwissenschaften, bevor ich im Sommersemester 1969 in die Medizinische Fakultät der Universität Gießen überwechselte und dort im Oktober 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Juli 1971 die ärztliche Vorprüfung und am 19.12.1974 das medizinische Staatsexamen bestand.

